SERIE A
N° D'ORDRE 1548

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Bernard MOMPON

ETUDE DE NOUVELLES LACTONES SESQUITERPENIQUES ISOLEES DE PLANTES DU GENRE VERNONIA (COMPOSEES)

SOUTENUE LE 14 Nov. 1975 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. E. LEDERER Président
A.F. THOMAS
J. POISSON
D.H.G. CROUT
Mme J. POLONSKY
MM. B.C. DAS
R. TOUBIANA

SERIE A
N° D'ORDRE

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Bernard MOMPON

ETUDE DE NOUVELLES LACTONES SESQUITERPENIQUES ISOLEES DE PLANTES DU GENRE VERNONIA (COMPOSEES)

SOUTENUE LE DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. E. LEDERER Président
A.F. THOMAS
J. POISSON
D.H.G. CROUT
Mme J. POLONSKY
MM. B.C. DAS
R. TOUBIANA

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MARTINE

et CORINNE,

A LA MEMOIRE DE MON PERE,

A MA MERE

et A TOUS MES AMIS.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548126_0041

Cette thèse a été effectuée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette, dirigé par Monsieur le Professeur E. LEDERER qui m'a fait l'honneur de m'accueillir à l'Institut et m'a permis de préparer cette thèse. Je suis heureux de pouvoir le remercier de la grande bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur R. TOUBIANA, chargé de recherche au C.N.R.S. Il m'est particulièrement agréable de le remercier de m'avoir confié cette étude et de m'avoir intéressé aux autres travaux réalisés dans son laboratoire. Je lui suis très reconnaissant de m'avoir communiqué sa rigueur scientifique et de m'avoir laissé une certaine liberté pour traiter ce travail.

Mes remerciements vont également à :

. Monsieur le Professeur J. POISSON, et à Madame J. POLONSKY qui ont accepté de juger ce travail.

. Monsieur A.F. THOMAS qui a bien voulu se charger du rapport de ma thèse.

. Monsieur le Professeur D.H.G. CROUT, pour l'intérêt qu'il porte à mon travail et pour avoir bien voulu faire partie du jury.

. Monsieur B.C. DAS, pour ses conseils et suggestions et pour avoir accepté de juger ce travail.

. Monsieur P. BOITEAU, pour les récoltes de plantes et les déterminations botaniques.

. Monsieur A.T. Mc PHAIL, pour une étude cristallographique.

. Monsieur G. MASSIOT, pour son aide et son amitié et en souvenir des nombreuses soirées passées auprès d'I.E.F. 240.

. Messieurs S.W.K. KAN et P. GONORD, pour m'avoir confié avec gentillesse leur prototype I.E.F. 240.

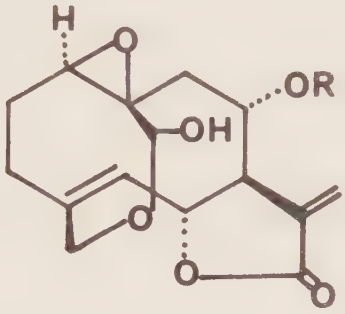
Je tiens à remercier tout particulièrement Madame TOUBIANA et Monsieur HO dont la collaboration efficace a permis la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à Monsieur J.P. COSSON et Madame BRAUN, pour la réalisation matérielle de cette thèse.

Ce travail a bénéficié d'une bourse de la Ligue Nationale Française contre le Cancer.

INTRODUCTION

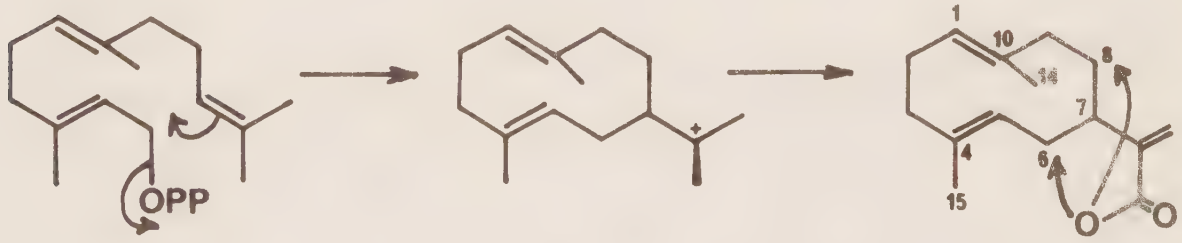
L'étude des lactones sesquiterpéniques isolées de plantes du genre Vernonia (famille des Composées) a été initiée en 1965 au laboratoire par l'isolement et la détermination de structure du vernolide 1, puis de l'hydroxyvernolide 2, à partir du Vernonia colorata Drake, originaire de Côte d'Ivoire (1)(2).



1 R = C(=O)–C(=CH$_2$)–CH$_3$

2 R = C(=O)–C(=CH$_2$)–CH$_2$OH

Ce sont des composés de type sesquiterpénique constitués d'une γ-lactone α,β insaturée fusionnée à un macrocycle à 10 atomes de carbone ; ils sont appelés germacranolides et sont issus de la cyclisation du trans, trans-farnésylpyrophosphate 3 par l'intermédiaire du carbocation 4 (3) :



3 4 5

Cette origine détermine les principaux caractères structuraux de la plupart des germacranolides :

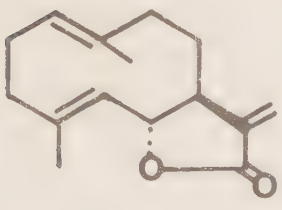
. deux doubles liaisons 1 (10), 4 (5), susceptibles d'être oxydées ou réduites,

. deux méthyles vinyliques parfois fonctionnalisés en alcool, aldéhyde ou acide,

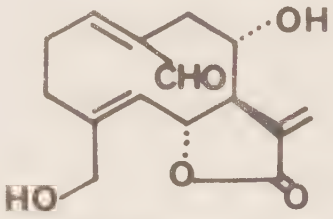
. un groupement isopropylidène dont l'oxydation conduit à la γ-lactone α,β insaturée fusionnée en cis ou en trans sur les carbones 6 ou 8.

En outre, on observe assez fréquemment des fonctions oxygénées supplémentaires en divers points de la molécule, et plus particulièrement des esters de nature variée (tiglique, acrylique, etc...) situés en α de l'isopropylidène originel.

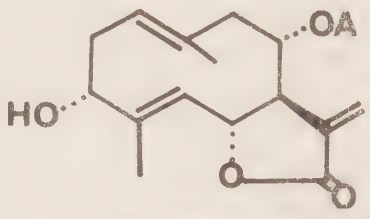
Les quelques formules citées ci-après illustrent ces possibilités :



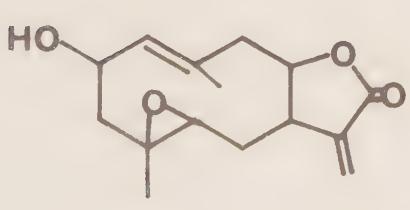
Costunolide (4)



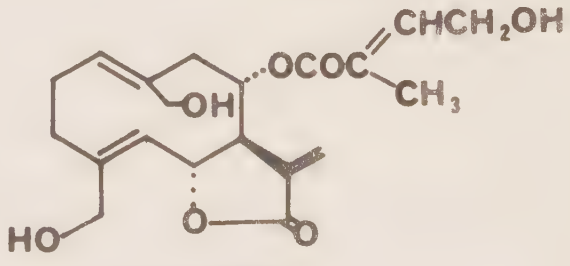
Urospermal (5)



Chihuahuin (6)



Baileyin (7)

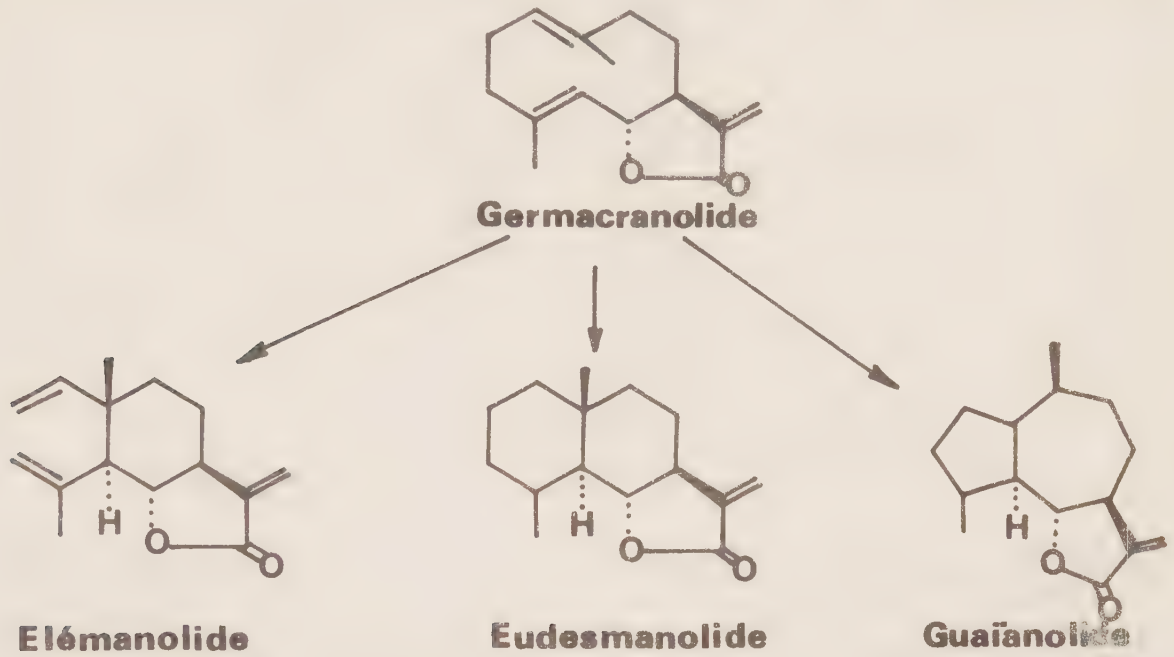


Jurineolide (8)

Diverses cyclisations, chimiquement ou thermiquement induites, pouvaient être envisagées pour ces macrocycles diéniques que sont les germacranolides (9) ; la plupart ont été réalisées avec le souci de relier ces conversions à des parentés

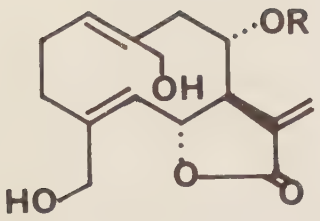
biogénétiques (10) ; des observations *in vivo* sont parfois venues étayer ces hypothèses en réunissant, dans la même plante, ou dans des plantes botaniquement apparentées, les composés impliqués *in vitro*.

En l'absence d'expériences de biosynthèse, ces interrélations éventuelles ne représentent que des spéculations ; elles n'en restent pas moins d'intéressantes hypothèses qui permettent, par exemple, de postuler le schéma suivant (11) où les germacranolides jouent le rôle de précurseurs de sesquiterpènes de type élémanolides, eudesmanolides, guaïanolides :

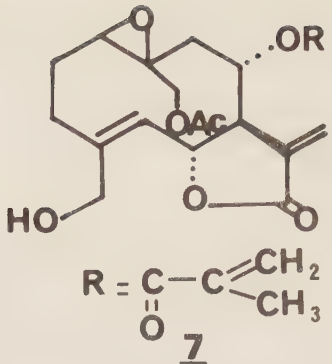


Notre travail sur les lactones sesquiterpéniques nous a permis de vérifier ce schéma puisque de trois espèces du genre Vernonia nous avons pu isoler et caractériser un ou plusieurs composés de chaque type de squelette.

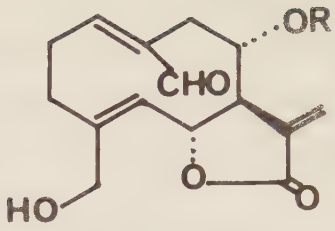
L'ensemble de ce travail fait l'objet de la présente thèse.


OR
OH
HO
O
O

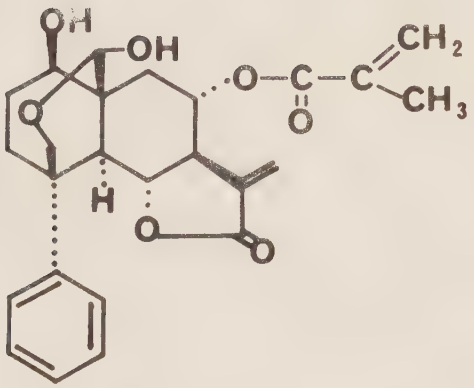
6


O
OR
OAc
HO
O
O
R = C
O
C
CH2
CH3

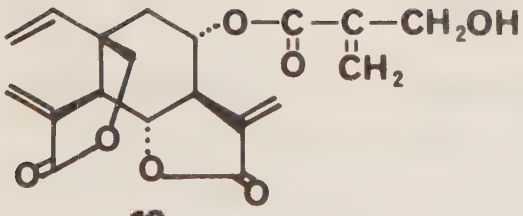
7


OR
CHO
HO
O
O

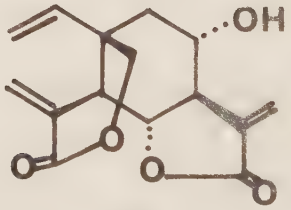
8


OH
OH
O
C
C
CH2
CH3
O
H
O
O

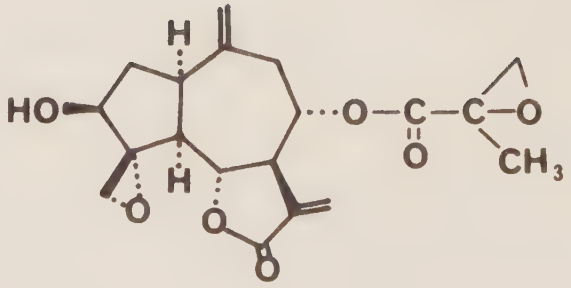
9


O
C
C
CH2OH
O
CH2
O
O
O
O

10


OH
O
O
O

11


H
HO
O
C
C
O
O
CH3
H
O
O
O

12

SOMMAIRE

Nous examinerons successivement les chapitres suivants :

	Pages
- NOTIONS PRELIMINAIRES	
A - Spécificités botaniques	5
B - Méthodes générales d'étude	6
C - Nomenclature et abréviations	15
I - ETUDE DES GERMACRANOLIDES isolés du Vernonia pectoralis Baker :	
A - Pectorolide 6	18
B - Vernopectolide-A 7	33
C - Vernopectolide-B 8	40
II - ETUDE D'UN EUDESMANOLIDE isolé du Vernonia pectoralis Baker :	
Vernodesmine 9	44
III - ETUDE DE DEUX ELEMANOLIDES isolés du Vernonia guineensis Benth :	
Vernodaline 10, Vernolépine 11	49
IV - ETUDE D'UN GUAIANOLIDE isolé du Vernonia sublutea Scott Elliot :	
Sublutéolide 12	61
V - CONCLUSION	74
PARTIE EXPERIMENTALE	86
BIBLIOGRAPHIE.	140

NOTIONS PRELIMINAIRES

A - SPECIFICITES BOTANIQUES

Le genre Vernonia (tribu des Vernoniées, famille des Composées) comprend plus d'un millier d'espèces, dont environ 500 en Amérique, 300 en Afrique, une centaine à Madagascar et le reste en Asie du Sud-Est et en Indonésie. Quelques rares espèces (comme Vernonia cinerea Less) font figure, depuis une époque récente, de "mauvaises herbes" et ont envahi d'immenses régions situées sous les tropiques.

Aucune classification botanique rigoureuse n'a pu ordonner jusqu'à présent cet immense genre (12)(13)(14) et les espèces américaines, africaines et malgaches doivent être examinées séparément.

Nous avons étudié deux espèces malgaches décrites dans la flore de Madagascar et des Comores de H. HUMBERT (15) et une espèce africaine décrite dans le livre de HUTCHINSON et DALZIEL (16).

Vernonia pectoralis Baker, variété delphinensis H. Humbert, est une espèce malgache récoltée dans la région de Fort-Dauphin. C'est un arbuste de 2 à 3m de haut avec des feuilles à limbe étroitement lancéolé ou sublinéaire. La tisane de ses feuilles passe, en médecine locale, pour un bon remède de la toux et de la malaria (17)(18).

Vernonia guineensis Benth, est une espèce de la savane africaine récoltée dans la région d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire). C'est un arbrisseau dont les rameaux sont recouverts d'un duvet roux et laineux. Trop toxiques, ses feuilles ne sont pas utilisées en médecine locale (19). Cependant, BOUQUET lui prête des propriétés curatives de la blennoragie et des douleurs rénales (20).

Vernonia sublutea Scott Elliot est une espèce très polymorphe croissant sur les collines calcaires de la vallée du Mandrare, dans la partie Ouest de la sous-préfecture de Fort-Dauphin (Madagascar). C'est un arbuste très rameux, couvert d'un feutrage ténu, très apprimé, de poils cotonneux blancs et très fins. Les feuilles alternes sont persistantes et petites. Le limbe, glabre en-dessus, est couvert en-dessous par le même tomentum blanc feutré que les rameaux (15). On ne lui connaît pas d'utilisation en médecine locale.

B - METHODES GENERALES D'ETUDE

Au cours de notre travail, sans délaisser les réactions chimiques traditionnelles, nous avons surtout fait appel aux techniques physiques modernes d'analyses. Nous allons brièvement montrer les principaux avantages attachés à quelques unes de ces méthodes.

1 - LA DIFFRACTION DES RAYONS X

L'analyse par les rayons X, étendue depuis peu grâce aux méthodes directes (21) à l'ensemble des molécules organiques, ne nécessite plus la préparation de dérivés contenant des atomes lourds. Elle fournit la structure complète de la molécule dans l'état cristallin. Mais cette méthode n'est pas, jusqu'à présent, adaptable aux études de routine, et elle trouve ses limites dans le caractère souvent amorphe des substances que nous avons isolées. La structure du vernodesmine 9 a été élucidée par cette méthode.

2 - LA RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

La R.M.N. s'est avérée la meilleure méthode pour l'étude des structures des lactones sesquiterpéniques non cristallisées. Nous donnerons ici quelques indications utiles pour comprendre les conditions expérimentales d'obtention des spectres et la nature des renseignements que l'on peut tirer de ceux-ci. Puis,

nous présenterons quelques techniques nouvelles de R.M.N. que nous avons utilisées.

. PRINCIPE GENERAL DE LA METHODE (22)

De spin = 1/2 le proton (^{1}H) et le carbone-13 (^{13}C), soumis à un champ magnétique constant H_0, peuvent prendre deux états de spin (l'un aligné avec le champ, l'autre antiparallèle) correspondant à deux niveaux d'énergie distincts.

Le principe de la R.M.N. est d'introduire une transition entre ces deux états par absorption ou émission d'énergie.

Si, par un champ de radiofréquence H_1, on fournit la quantité d'énergie nécessaire au noyau pour passer du niveau d'énergie le plus bas au niveau plus élevé, il y a résonance du noyau.

Les noyaux, amenés à l'état excité au moment de la résonance, ont un temps de vie fini dans cet état et retombent à l'état fondamental en restituant leur énergie par un processus appelé relaxation.

Si on induit des transitions en permanence, on aboutit à une égalisation dans les deux états et à la disparition d'un signal observable. Ce processus est appelé saturation.

. RESONANCE DU PROTON ^{1}H (23)

La résonance du proton se traduit par une courbe d'absorption ou pic qui peut être défini par deux paramètres :

. son déplacement chimique δ,

. sa multiplicité et les constantes de couplage J.

Le déplacement chimique

Les divers atomes d'hydrogène d'une molécule organique ne possèdent pas tous le même environnement électronique ; par conséquent, au sein d'un champ uniforme H_0, ils subissent en réalité

un champ effectif H_{eff} différent pour chacun d'eux et inférieur à H_0 ; la circulation électronique est en effet génératrice d'un champ induit s'opposant à H_0 et appelé écran diamagnétique.

Deux facteurs rendent compte des variations de cet écran :

. la densité électronique : un proton lié à un groupement électronégatif résonnera à une valeur du champ plus faible qu'un proton lié à un groupement moins électronégatif.

. l'anisotropie magnétique : les électrons π d'un carbonyle, d'une double liaison ou d'un noyau aromatique, placés dans le champ magnétique H_0 créent des champs magnétiques anisotropes qui influencent la constante d'écran d'un proton même assez éloigné de ces groupements.

Le déplacement chimique d'un proton mesure la distance séparant son signal de celui d'un composé de référence interne, le tétraméthylsilane pris comme zéro.

Le déplacement chimique dépend du champ magnétique appliqué H_0 et pour avoir un nombre indépendant de l'appareil utilisé, le déplacement chimique mesuré en Hertz (Hz) est divisé par la fréquence de l'appareil (60MHz, le plus souvent), puis multiplié par 10^{-6}. Pour cette raison, δ est exprimé en partie par million (ppm).

L'aire du signal déterminée par un intégrateur est proportionnelle au nombre d'atomes d'hydrogène représentés par ce signal.

La multiplicité du signal et les constantes de couplage

De même que la présence des électrons est responsable du déplacement chimique d'un proton, celle de noyaux voisins doués de spin est responsable du couplage qui se traduit par la multiplicité des raies du signal : ainsi, si un proton est couplé avec un autre proton, le signal n'apparaît plus sous forme d'un pic mais de deux (un doublet) dont la séparation exprimée en Hertz (Hz) est appelée constante de couplage J.

Le signal du proton responsable de ce dédoublement est, par réciproque, dédoublé avec la même constante de couplage J.

Ce phénomène, appelé couplage spin-spin est indépendant du champ appliqué H_0.

Le couplage peut se transmettre à travers plusieurs liaisons, sa valeur dépend de la nature des liaisons (simple ou multiple) et des angles qu'elles déterminent entre elles.

Les déplacements chimiques et les constantes de couplage sont donc extrêmement importante par les renseignements qu'ils donnent sur la nature des protons, leur enchaînement et la géométrie moléculaire.

. ANALYSE DES SPECTRES DE R.M.N.

On distingue les cas où les fréquences de résonances des protons couplés $\Delta\delta$ sont suffisamment éloignés comparativement au couplage J (spectres du 1er ordre) et les systèmes fortement couplés où les déplacements chimiques et les constantes de couplage J sont du même ordre de grandeur (spectres du 2ème ordre).

Conventionnellement, on désigne par des lettres situées dans une même partie de l'alphabet les protons fortement couplés (exemple : système ABC) et par des lettres prises dans des parties différentes de l'alphabet, les protons faiblement couplés (exemple : système AMX).

L'analyse des spectres du 1er ordre est relativement simple car les raies correspondant à chaque proton sont bien individualisées, alors que la connaissance exacte des spectres du 2ème ordre nécessite le recours à une calculatrice électronique (voir le chapitre III) ou à une technique de simplification des spectres :

. double résonance,

. enregistrement du spectre à une intensité de champ plus élevée,

. utilisation des effets de solvant,

. addition de chélates (voir le chapitre IV).

. DOUBLE RESONANCE

C'est un processus de saturation induit par un champ de radiofréquence H_2 supplémentaire à H_0 et H_1. Il existe de nombreuses méthodes d'irradiations multiples ; nous n'examinerons ici que les techniques de découplage et d'Effet Overhauser Nucléaire (N.O.E.).

Le découplage (24)

Soit un système constitué par deux protons A et X. Dans l'expérience normale de R.M.N., les deux spins A et X s'orientent le long de l'axe z du champ magnétique permanent H_0 et un champ de radiofréquence H_1 induit des transitions entre les états d'énergie quantifiés. Si on applique un champ de radiofréquence H_2 à la fréquence de résonance de X, le noyau X est contraint d'avoir son spin quantifié le long d'un axe x perpendiculaire à z. Un découplage est ainsi réalisé, le noyau A est devenu insensible à l'orientation du spin du noyau X, qu'elle soit parallèle ou antiparallèle à la direction du champ directeur H_0, puisque les moments nucléaires A et X sont quantifiés le long d'axes orthogonaux. On observe pour A une raie au lieu d'un doublet.

De telles expériences permettent d'établir facilement l'origine des couplages entre les protons et la valeur des constantes de couplage.

L'Effet Overhauser Nucléaire (N.O.E.) (25)

Le principe de l'Effet Overhauser Nucléaire est fondé sur la relaxation mutuelle de deux noyaux voisins : l'excès de l'énergie fournie à un noyau A modifie la population d'un noyau voisin X ; on observe donc une variation de l'intensité

du signal de X même s'il n'est pas couplé avec A. Cette méthode permet de montrer la proximité dans l'espace des protons A et X.

. AUTRES METHODES FACILITANT L'ANALYSE DES SPECTRES

En dehors des méthodes de double résonance on peut avoir recours à :

. Un changement de la fréquence d'étude

Les fréquences des déplacements chimiques étant proportionnelles à la fréquence du champ H_0 alors que les constantes de couplage J en sont indépendantes, un enregistrement à 240MHHz augmentera d'un facteur 4 les écarts δA-δB mesurés à 60MHz.

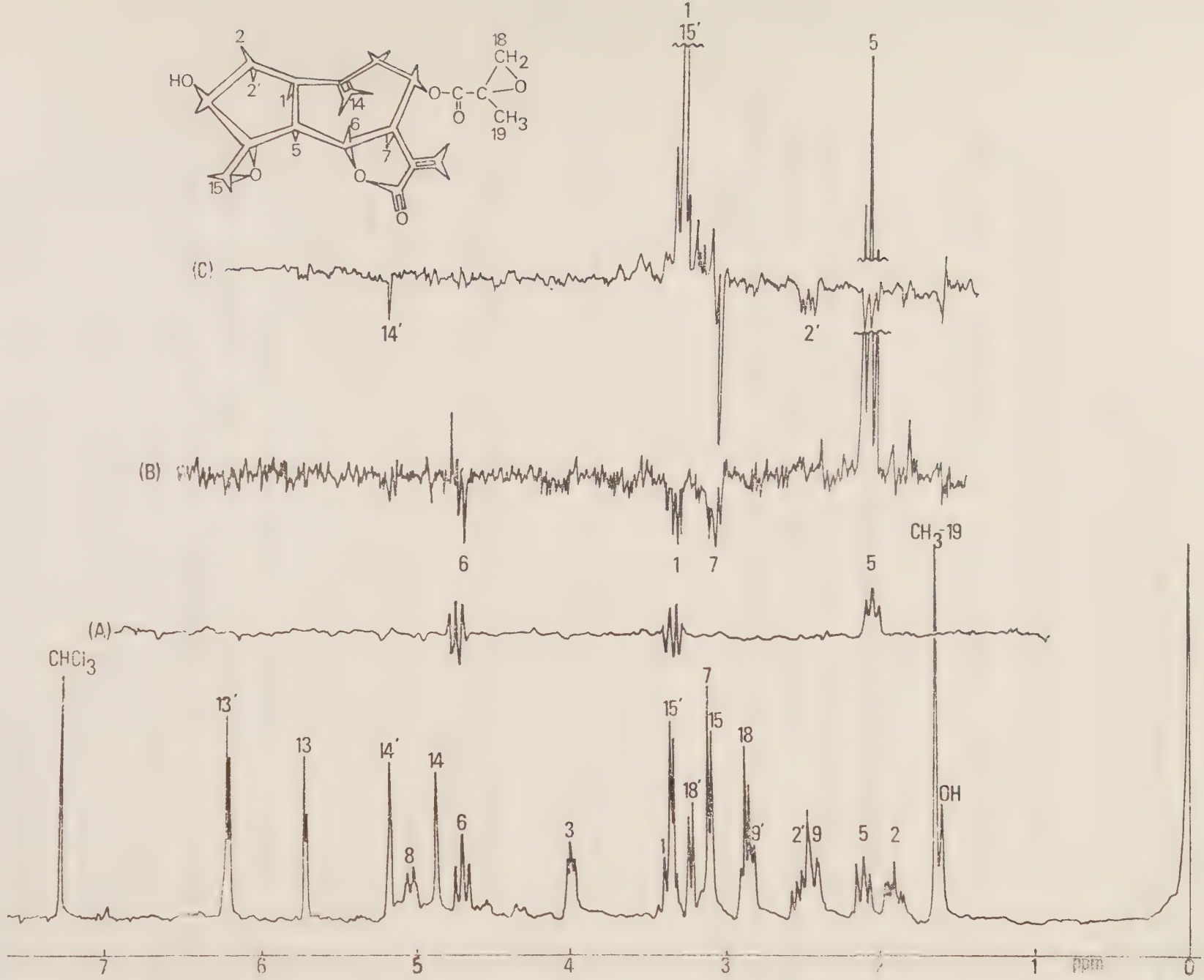
$$(\delta A-\delta B)_{240MHz} = (\delta A-\delta B)_{60MHz} \times \frac{240}{60}$$

Il en résulte une augmentation des rapports Δδ/J et donc une simplification des spectres.

. L'emploi de la R.M.N. par impulsion et transformée de FOURIER (26)

Lors de l'étude de substances à faible concentration, le rapport signal sur bruit peut être si défavorable que l'exploitation des spectres devient difficile, voire impossible. Une voie permettant d'améliorer ce rapport est la formation des moyennes. Le spectre est enregistré plusieurs fois et accumulé dans une mémoire. Soit n le nombre d'enregistrements l'amplitude du signal augmentera d'un facteur n, le bruit d'un facteur $\sqrt{n}$ seulement. Ce rapport s'améliore donc d'autant plus que le nombre de mesures augmente mais l'inconvénient de ce procédé est que le temps de mesure devient exagérément long.

Une diminution importante de ce temps de mesure est apportée par la méthode de la transformée de FOURIER. Son principe est le suivant : il consiste à exciter simultanément par des impulsions de radiofréquence courtes et intenses, toutes les résonances nucléaires possibles d'une substance donnée. Le



Spectrométrie différentielle : (A) : détermination des couplages (B) et (C) : mesure des effets Overhauser (spectre du sublutéolide 12, cf. Chapitre IV)

signal d'induction ainsi produit est appelé interférogramme en raison de l'interférence des tensions sinusoïdales produites par les différentes fréquences de résonance. Cet interférogramme est accumulé plusieurs fois, puis transposé par une transformée de FOURIER, du domaine de temps au domaine de fréquence et devient ainsi un spectre.

Dans le travail qui va suivre, les produits conduisant à des spectres complexes à 60MHz ont été enregistrés sur un appareil prototype à haut champ fonctionnant à 240MHz en transformée de FOURIER (27). Les spectres obtenus se prêtent généralement à une analyse du 1er ordre. Le rapport signal sur bruit est exceptionnellement élevé (160 pour l'éthyl-benzène à 1%) et peut être amélioré par accumulation des signaux. Nous avons généralement utilisé 5mg de substance dissous dans 0,5ml de solvant avec 8 accumulations. Afin de déterminer l'origine des couplages, ou de supprimer certaines raies intenses, comme les raies du solvant, nous avons utilisé une double, et parfois une triple, irradiation.

. L'emploi d'une méthode différentielle (28)

La méthode consiste à effectuer dans la mémoire du calculateur associé au spectromètre la différence entre deux spectres obtenus dans des conditions différentes. Quand on effectue la différence entre un spectre de référence et un spectre obtenu en présence d'une double irradiation sélective, seules subsistent la raie irradiée puisqu'elle est saturée la moitié du temps et toutes les raies qui lui sont couplées et qui ont vu leur allure se modifier durant l'irradiation.

Cette technique permet de repérer rapidement les couplages entre protons, même dans le cas où des résonances sont superposées et de mettre en évidence des effets Overhauser par intégration du spectre de différence, la mesure étant faite en prenant comme référence d'intensité l'intensité du pic irradié (100% par proton, 300% pour un CH_3).

Pour pouvoir mesurer les effets Overhauser sans être gêné par les effets de découplage, le second champ de radiofréquence est appliqué en temps partagé ("gated decoupling") ; ainsi, au moment de l'enregistrement, seuls subsistent les effets Overhauser, alors que les couplages sont rétablis.

R.M.N. DU CARBONE-13 (29)

Son principe est identique à celui de la R.M.N. protonique. La gamme des déplacements chimiques est d'environ 400ppm alors qu'elle n'est que d'une trentaine de ppm pour ^{1}H. Les signaux apparaissent sous forme de multiplets en raison de couplages directs ^{13}C-H (de l'ordre de 120-250Hz) et de couplages à distance ^{13}C-^{12}C-H ou ^{13}C-^{12}C-^{12}C-H (de l'ordre de 0 à 10Hz). Dans les composés contenant du ^{13}C en richesse naturelle (1,1%), le couplage ^{13}C-^{13}C ne s'observe pas car la probabilité du voisinage de deux atomes de ^{13}C dans la même molécule est très faible.

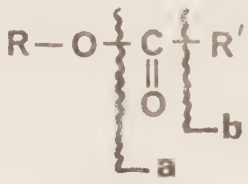
L'attribution des signaux du spectre de ^{13}C aux carbones respectifs est effectuée en tenant compte de la théorie des déplacements chimiques du carbone (29), par référence aux exemples de la littérature (30) et par comparaison des spectres obtenus avec découplage total des protons et avec découplage partiel des protons.

Le découplage simultané de tous les protons (découplage par bruit) permet d'éliminer tous les couplages et le spectre montre une série de singulets représentant les différents atomes de carbone.

Le découplage partiel des protons qui consiste à irradier fortement en dehors du spectre protonique (découplage par ondes continues), supprime les couplages à longue distance et réduit la valeur des constantes de couplage direct $J_{^{13}C-^{1}H}$; les différents atomes de carbone apparaissent sous forme de singulet, doublet, triplet et quadruplet en fonction du nombre d'atomes d'hydrogène qu'ils portent.

3 - LA SPECTROMETRIE DE MASSE

Elle permet de confirmer le poids moléculaire des composés étudiés et renseigne sur le nombre et la nature des groupements fonctionnels présents : alcool (perte de H_2O), aldéhyde (perte de HCO), acétate (perte d'acide acétique et de cétène) et ester (rupture selon a et b).



Pour l'étude de la plupart des lactones sesquiterpéniques, l'apport de cette technique est relativement limité et permet essentiellement la reconnaissance d'éventuels esters ; ce type de produit ne fournit guère, en général, d'autres fragmentations utiles à la détermination de la structure (31).

4 - LE DICHROÏSME CIRCULAIRE

Dans le cas des lactones sesquiterpéniques, le dichroïsme circulaire renseigne essentiellement sur la fusion de la γ-lactone exométhylénique, par une règle empirique proposée en 1970 par STÖCKLIN (32) et qui relie le signe de l'effet Cotton de la transition n-π* de la γ-lactone exométhylénique (entre 250 et 265nm) à la position 6-7 ou 7-8 et à la stéréochimie cis ou trans de la γ-lactone.

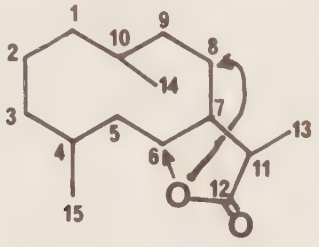
	Jonction en 6 du cycle lactonique	Jonction en 8 du cycle lactonique
Fusion cis	Effet Cotton positif	Effet Cotton négatif
Fusion trans	Effet Cotton négatif	Effet Cotton positif

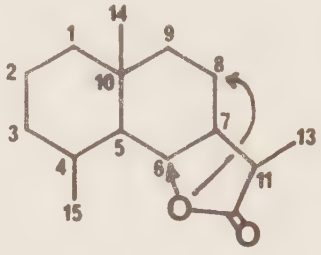
C - NOMENCLATURE ET ABREVIATIONS

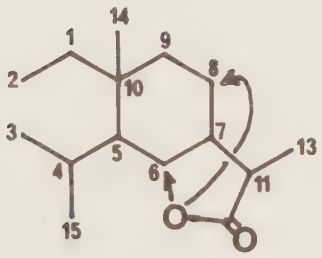
1 - NOMENCLATURE

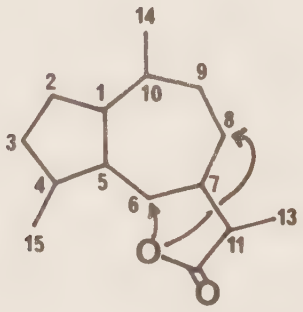
Il est attribué aux lactones sesquiterpéniques des noms triviaux rappelant l'origine botanique du produit, parfois suivis du suffixe "olide" désignant la présence de la γ-lactone.

La représentation adoptée illustre l'origine biogénétique des divers squelettes issus du trans, trans-farnésylpyrophosphate. La numérotation est celle utilisée par SÖRM pour les germacranolides (33).

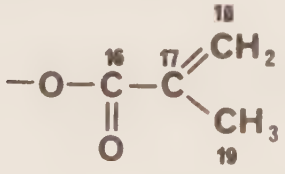






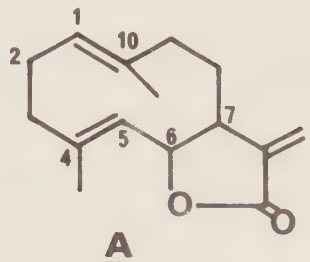


L'ester α-méthyle acrylique dont il est fait souvent mention dans ce travail est numéroté de la manière suivante :

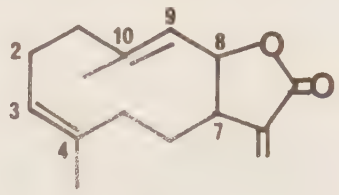


Les germacranolides sont représentés suivant les conventions de NEIDLE et ROGERS (34) qui placent les doubles liaisons du cyclodécadiène (ou leurs équivalents biogénétiques) sur les positions 1(10) et 4(5). - représentation A excluant la repré-

sentation B issue de A par une rotation autour d'un axe C_2-C_7-.



A



B

Les substituants situés en-dessous du plan du macrocycle sont dits α et ceux au-dessus de ce plan sont dits β. Les liaisons α sont pointillées ; les liaisons β sont renforcées.

La liaison C_7-C_{11} est disposée en position β comme pour toutes les lactones sesquiterpéniques de configuration absolue connue (35).

2 - ABREVIATIONS

Pour désigner la résonance magnétique nucléaire, l'abréviation R.M.N. est employée ; de même, I.R. pour infrarouge, U.V. pour ultraviolet et S.M. pour spectrométrie de masse.

Au cours des commentaires des spectres de R.M.N., les déplacements chimiques sont fournis en ppm et les constantes de couplage en Hertz. s désigne un singulet, d un doublet, t un triplet, dd un doublet dédoublé et m un multiplet. Par convention, lorsque deux protons distincts portés par un même carbone résonnent à des valeurs différentes de champ, nous avons attribué le numéro H-n' au proton présentant le plus important déplacement paramagnétique ; ainsi, H-13' est à champ plus faible que H-13.

C H A P I T R E I

ETUDE DES GERMACRANOLIDES ISOLES DU VERNONIA PECTORALIS BAKER, VAR. DELPHINENSIS H. HUMBERT

L'extraction des feuilles sèches broyées est effectuée par lixiviation à température ambiante. Après délipidation à l'éther de pétrole et élimination de la chlorophylle, l'extrait chloroformique obtenu est analysé par chromatographie sur couche mince.

Trois produits quantitativement prépondérants en assurent la constitution :

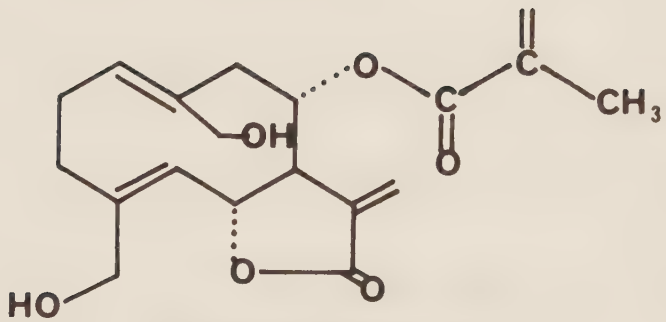
- un produit ayant la même valeur de Rf que le vernolide 1 (1),
- un produit intermédiaire,
- un troisième composé de valeur de Rf identique à celle de l'hydroxyvernolide 2 (2).

La chromatographie sur colonne de cet extrait fournit le vernolide 1 (rendement*=0,9%), l'hydroxyvernolide 2 (rendement =0,2%), ainsi qu'un nouveau produit de consistance amorphe, le pectorolide 6 (rendement=0,6%).

Le vernolide et l'hydroxyvernolide ont été identifiés par la coïncidence de leurs données spectrales (I.R., R.M.N., S.M.) et de leurs propriétés physiques (pouvoir rotatoire, point de fusion de mélange) avec ceux d'échantillons authentiques.

---

* Les rendements des différentes lactones sesquiterpéniques sont calculés par rapport au poids de la plante sèche.



PECTOROLIDE 6

A - STRUCTURE DU PECTOROLIDE

Le pectorolide 6 (36), $C_{19}H_{24}O_6$, $[\alpha]_D$=+243° (c=1,05 ; chloroforme) est un produit amorphe qui se dégrade rapidement à température ambiante*.

Il est très soluble dans le chloroforme, peu soluble dans le méthanol et insoluble dans l'éther éthylique.

Sa formule brute découle des données conjuguées de l'analyse centésimale, du spectre de masse et du spectre de R.M.N. du carbone-13.

I - NATURE DES GROUPEMENTS FONCTIONNELS

Les groupements fonctionnels sont, en partie, définis par l'examen des données spectrales :

. Le spectre infrarouge du pectorolide présente les bandes caractéristiques d'une γ-lactone α,β insaturée (1735 et 1655cm^{-1}) (37), d'une fonction ester (1715cm^{-1}) (38), d'une double liaison (1645cm^{-1}) (39) et d'une ou plusieurs fonctions alcools (3600 et 3410cm^{-1}).

. L'intensité de la bande d'absorption U.V. à 217nm (ε=21300) est en accord avec la présence des deux carbonyles conjugués (γ-lactone et ester) (40).

. Le spectre de masse ne montre pas de pic moléculaire mais un pic à m/e = 330 (M-18) et des pics à m/e = 244 (M-18-86), 226 (M-18-18-86), 69 et 41 qui témoignent de l'existence d'une ou plusieurs fonctions alcool et d'un ester α-méthyle acrylique (42).

---

* Il est en particulier connu que les substances dont la γ-lactone est exométhylénique se dimérisent facilement sous l'effet de la chaleur (41).
Le pectorolide est donc conservé en solution dans le chloroforme au froid et à l'obscurité.

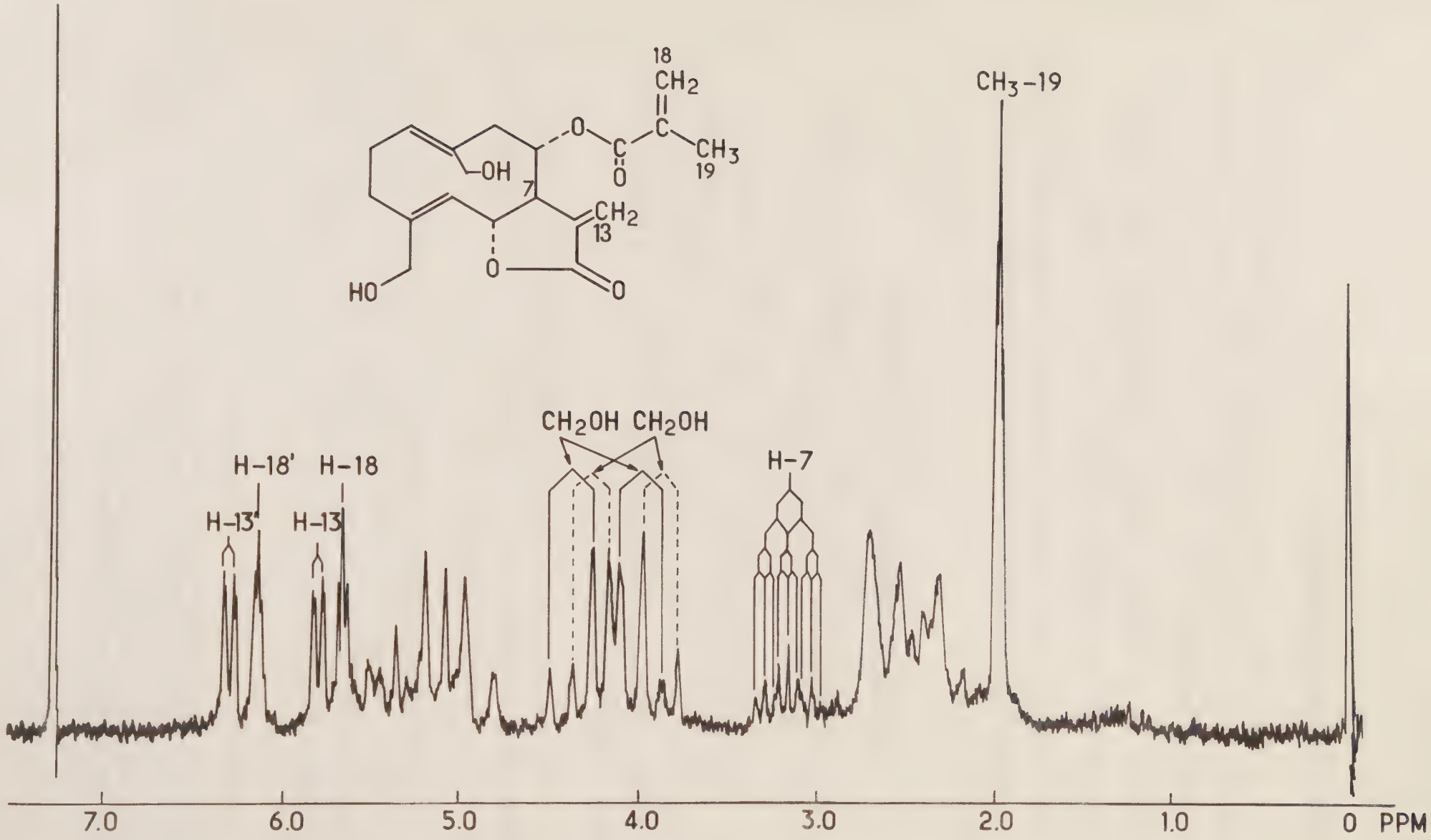
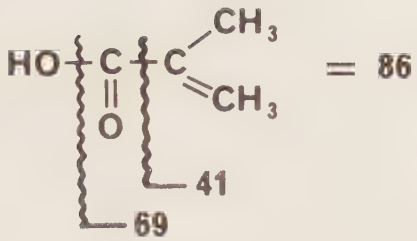
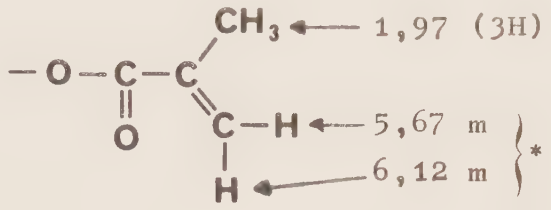


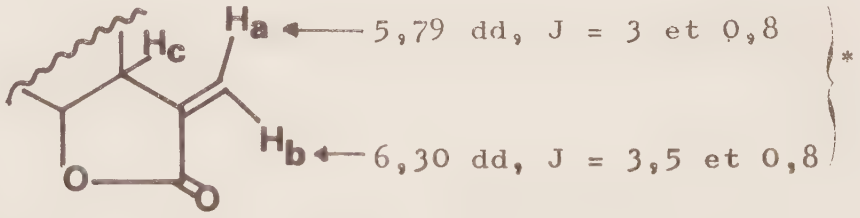
FIGURE I : Spectre de R.M.N. du pectorolide 6 ($CDCl_3$ + D_2O, 90MHz)



. Le spectre de R.M.N. du pectorolide (Figure I, page ci-contre) est aussi en accord avec la présence d'un groupement ester de cette nature (43) :



En outre, on relève la présence de deux dd à 6,30 et 5,79 témoignant du caractère exocyclique de la double liaison conjuguée de la γ-lactone (44) :

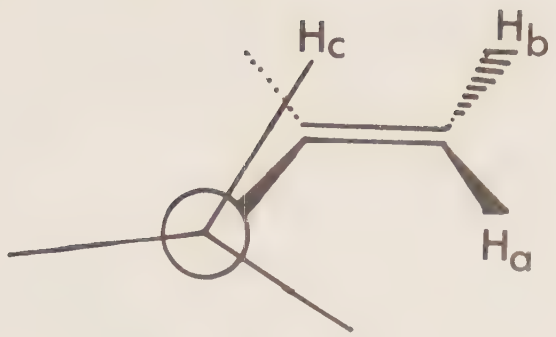


La multiplicité des signaux dûs aux hydrogènes du méthylène de la γ-lactone implique deux types de couplage : l'un, le plus faible, est attribuable au couplage géminé des deux hydrogènes entre eux, l'autre correspond au couplage allylique avec H_c.

La valeur des constantes de couplage allylique observées est en accord avec la règle énoncée par SAMEK où la grandeur de J transoid est supérieure à celle de J cisoid (46).

---

* Le signal présentant le plus important déplacement paramagnétique est attribué au proton en situation cis par rapport au groupe carbonyle ; ceci par référence à l'ensemble des systèmes α, β conjugués (45).



^4J cisoid = J_{ac} = 3Hz

^4J transoid = J_{bc} = 3,5Hz

Ce couplage est très important et détermine une démarche désormais classique au cours de l'élucidation de structure de lactones terpéniques à méthylène exocyclique ; l'irradiation des protons H_a et H_b permet de localiser le proton H_c sur le spectre dont l'irradiation permet, à son tour, de repérer ses éventuels protons vicinaux, et ainsi de suite de reconstituer, au moins partiellement, l'enchaînement carboné de la molécule.

Ce procédé a donc été mis en oeuvre : H_c a ainsi pu être identifié sur le spectre de R.M.N. du pectolide comme un multiplet situé à 3,20 (Figure III et Tableau I, page 26).

Son irradiation perturbe :

. un triplet situé à 5,55 (J=9),

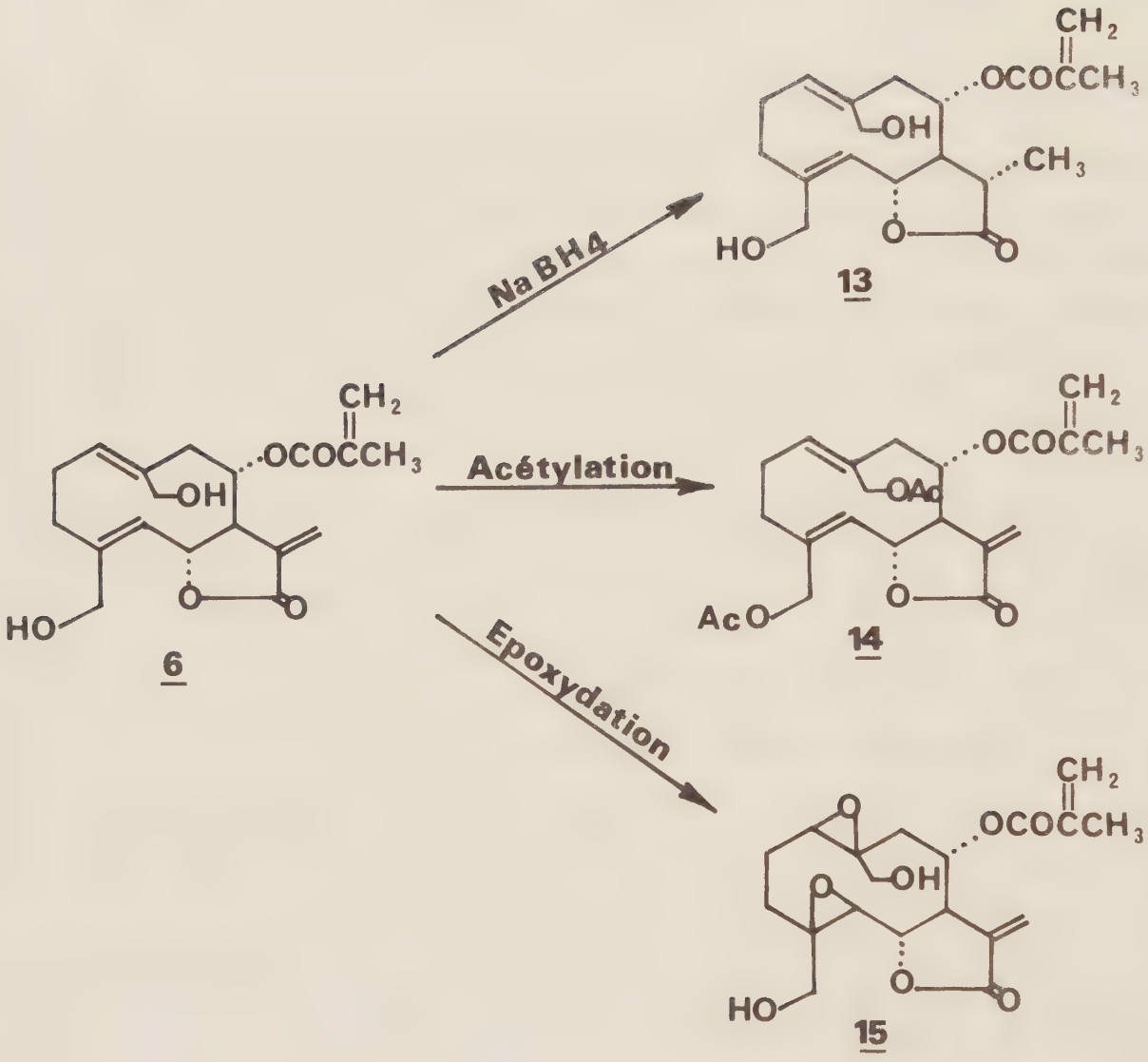
. un multiplet situé à 5,18 dont le couplage avec un autre proton situé à 4,91 (d, J=9) a pu ainsi être mis en évidence.

Les deux premiers, voisins de H_c, peuvent âtre attribués l'un à la γ-lactone, l'autre au groupe ester.

On observe aussi entre 4,40 et 3,80 un massif complexe de 4 protons qui apparaît après deutériation comme un multiplet de 8 raies, décomposable en 4 doublets (parties AB de deux systèmes ABX) :

. 4,36 d, J = 14 ; 3,96 d, J = 14

. 4,28 d, J = 12 ; 3,88 d, J = 12.


CH2
OCOCCH3
OH
HO
O
O
6
NaBH4
13
CH3
Acétylation
OAc
AcO
14
Epoxydation
15

Ces signaux suggèrent la présence de deux alcools primaires liés à un atome de carbone tétrasubstitué ou à une double liaison (47).

Le décompte des oxygènes exclut que d'autres protons soient de type H-C-O ; les deux protons situés entre 4,60 et 5,50 et non encore attribués sont donc probablement de nature oléfinique.

Les groupements fonctionnels suivants : une γ-lactone exométhylénique, un ester α-méthyle acrylique, deux alcools primaires et deux doubles liaisons trisubstituées peuvent donc être envisagées dans la formule du pectorolide.

Quelques réactions chimiques simples confirment la présence de ces fonctions :

a) Action du borohydrure de sodium

Le borohydrure de sodium réduit les doubles liaisons conjuguées à un ester (48), l'addition selon un mode 1-4 justifiant de l'obtention à partir d'un ester α, β conjugué de l'ester saturé correspondant (49). Il est nécessaire, pour cette addition, que le système conjugué soit plan (50) ; ainsi, généralement, la γ-lactone exométhylénique est quantitativement saturée, alors que l'ester insaturé reste inchangé (51).

L'action du borohydrure de sodium sur le pectorolide 6 fournit effectivement le dihydropectorolide 13, $C_{19}H_{26}O_6$, amorphe, $[\alpha]_D$=+148° (c=1 ; chloroforme). Cette réduction est mise en évidence par l'absence sur le spectre de R.M.N. des signaux caractéristiques du méthylène exocyclique de la γ-lactone et par la présence du doublet d'un méthyle secondaire (3H) à 1,40ppm.

b) Acétylation

L'obtention, par action d'anhydride acétique dans la pyridine du diacétate 14, $C_{23}H_{28}O_3$, amorphe, $[\alpha]_D$=+107° (c=1 ;

$CHCl_3$) dont le spectre infrarouge est dépourvu de bande OH, confirme la présence de deux alcools primaires dans la molécule de pectorolide 6 :

. Spectre de masse : m/e = 432 ($M^{+\cdot}$) ; 390 (M-42) ; 373 (M-59) et 312 (M-60-60).

. Spectre de R.M.N.: CH_3-COO 2,13 s (3H)
2,10 s (3H)

CH_2OAc 4,64 d, J = 13
4,36 d, J = 13
4,60 s élargi (2H)

c) Epoxydation

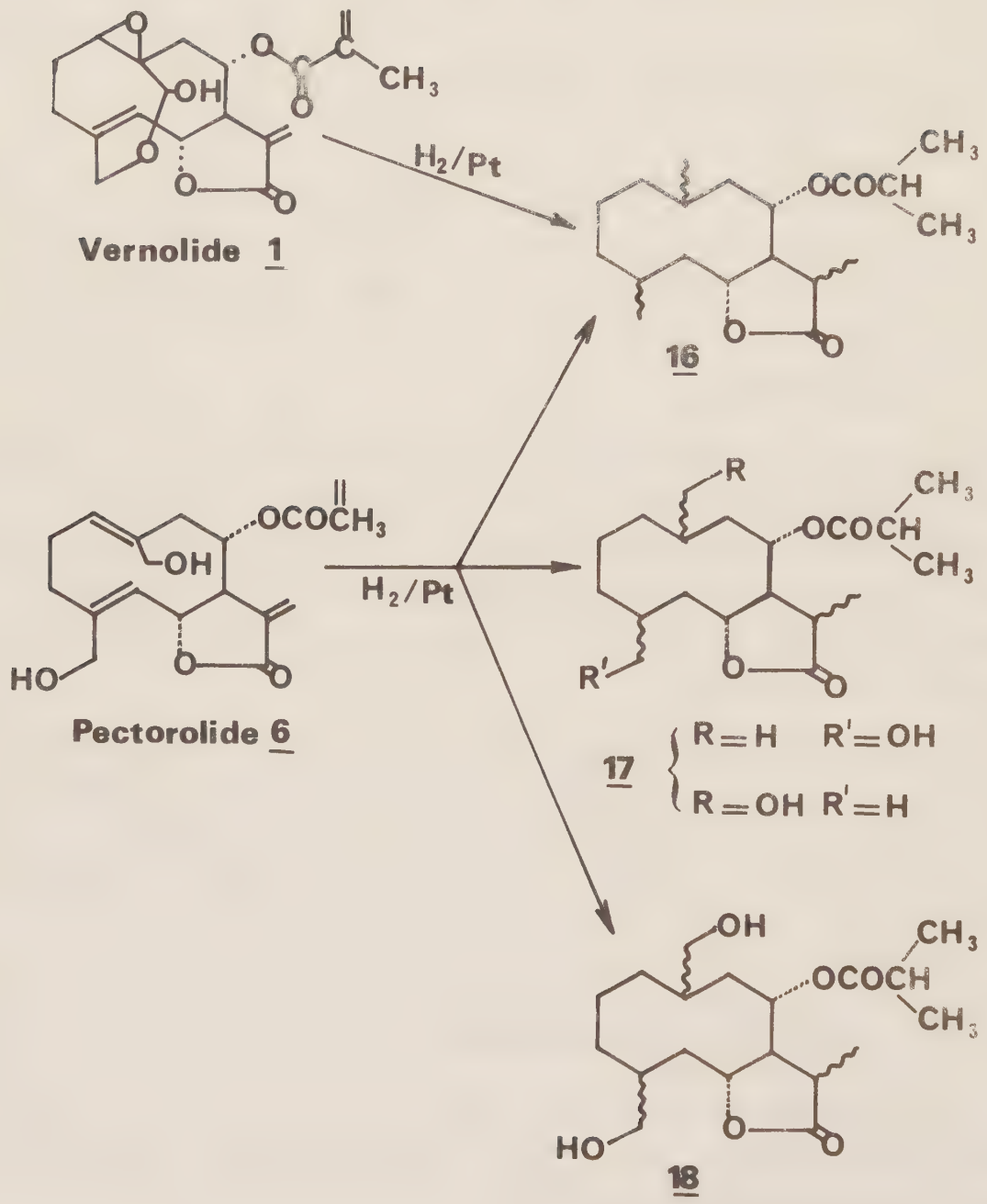
L'action de l'acide paranitroperbenzoïque sur le pectorolide 6 conduit au dérivé 15 (52) : $C_{19}H_{24}O_8$, F=183-185°, $[\alpha]_D$=-28° (c=0,32 ; dioxanne) dont le spectre de masse prouve l'addition de deux atomes d'oxygène ($M^{+\cdot}$=380). Les pics à m/e=276 (M-18-86) ; 69 et 41 prouvent que l'ester α-méthyle acrylique est inchangé.

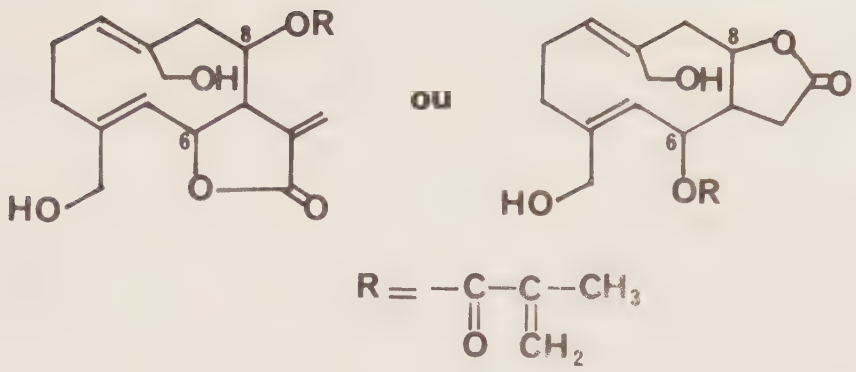
Le pectorolide possède donc deux doubles liaisons trisubstituées isolées. Les deux protons oléfiniques situés entre 5,50 et 4,60 dans le spectre de R.M.N. du pectorolide se retrouvent à 2,75 (m) et 3,02 (d, J=9,5) dans le spectre du dérivé diépoxydé 15.

II - STRUCTURE DU PECTOROLIDE

Le décompte des éléments structuraux définis plus haut permet d'attribuer au pectorolide une structure sesquiterpénique de type germacranolide dont les deux méthyles seraient oxydés en alcool primaire.

Comme les protons H-C-O de l'ester et de la lactone sont de même nature, ils ne peuvent être attribués sur le spectre de R.M.N. et les deux formules planes suivantes peuvent être envisagées :


OH
O
O
O
O
CH3
Vernolide 1
H2/Pt
CH3
OCOCH
CH3
16
OCOCH3
OH
HO
Pectorolide 6
H2/Pt
R
R'
17
R=H R'=OH
R=OH R'=H
OH
HO
18



Elles tiennent compte des impératifs biogénétiques des germacranolides développés dans l'introduction de ce travail et l'oxydation des méthyles vinyliques en alcools primaires allyliques a déjà été rapportée dans la littérature (53).

L'hydrogénation du pectorolide a donc été entreprise afin de vérifier par hydrogénolyse la nature allylique des deux alcools (54)(55) et de choisir entre les deux formules proposées, en corrélant les produits obtenus avec les dérivés d'hydrogénation du vernolide 1 (schéma page ci-contre).

a) Hydrogénation du pectorolide

L'hydrogénation catalytique du pectorolide dans l'acide acétique en présence de PtO_2 fournit effectivement un mélange des différents stéréoisomères des trois produits 16, 17 et 18.

. Perhydropectorolide 16 (rendement = 27%) : c'est en fait un mélange de quatre isomères 16a, 16b, 16c et 16d mis en évidence par chromatographie en phase gazeuse (voir le chromatogramme, page 24). Une étude comparative montre l'identité des temps de rétention de ces produits avec les quatre stéréoisomères obtenus par hydrogénation du vernolide 1.

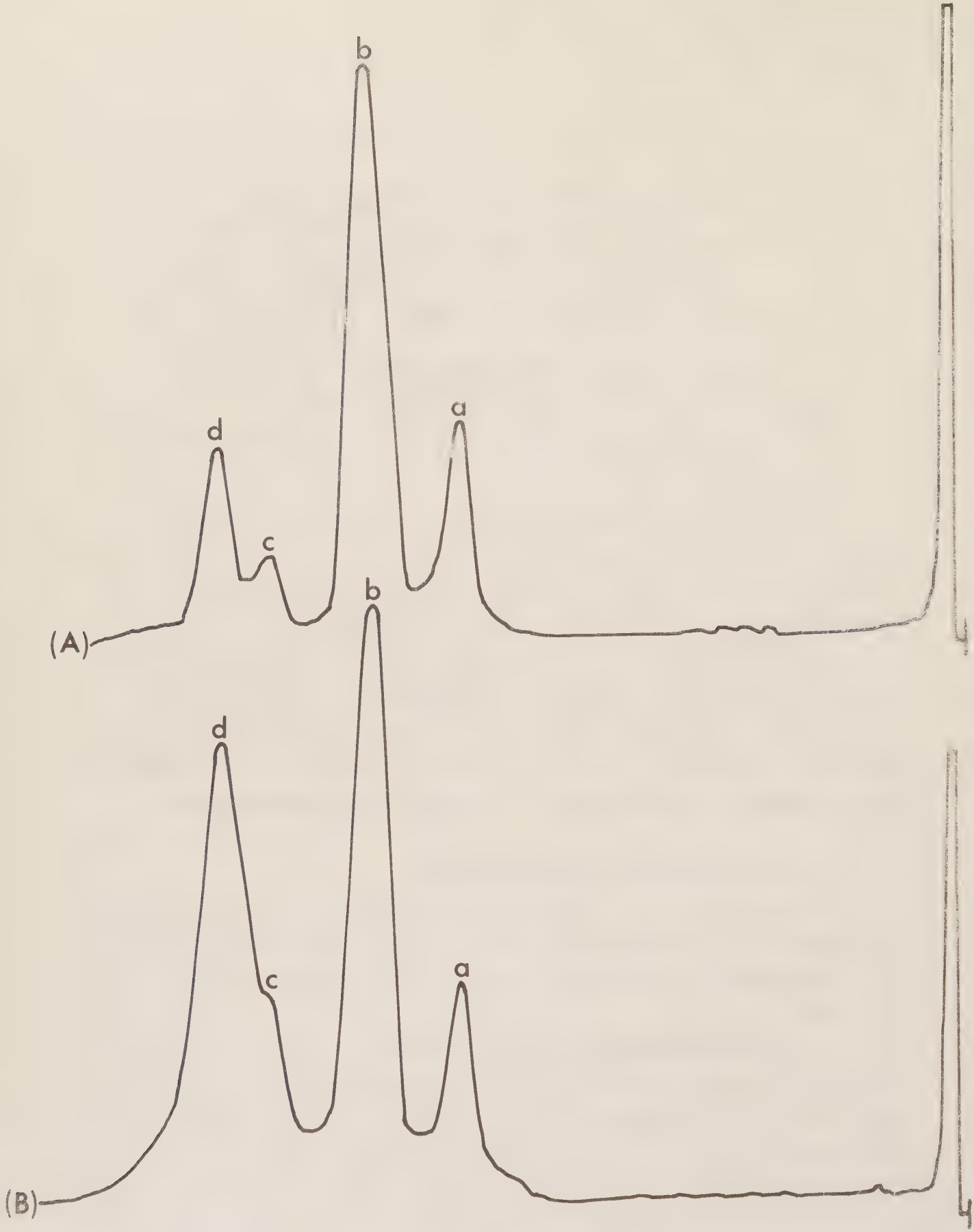


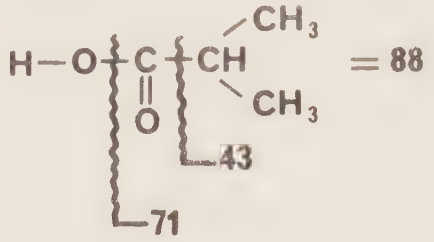
FIGURE II : Chromatogrammes en phase gazeuse du mélange des perhydrovernolide (A) et perhydropectorolide (B)

Plusieurs chromatographies sur colonne permettent d'isoler puis de cristalliser les deux isomères principaux :

. 16b : $C_{19}H_{32}O_4$, F=110-114°, $[\alpha]_D$=+80° (c=1 ; chloroforme)

. 16d : $C_{19}H_{32}O_4$, F=55-60°, $[\alpha]_D$=+65° (c=1 ; chloroforme).

Leurs spectres de masse traduisent l'addition de 8 hydrogènes et l'hydrogénolyse des deux alcools allyliques ($M^{+\cdot}$=324). Ils montrent en outre la saturation de l'ester (pics à m/e=281 (M-43) ; 236 (M-88) ; 71 et 43).



Leurs spectres de R.M.N. sont en accord avec la structure proposée : on note à champ faible l'absence des protons oléfiniques et à champ fort un massif qui intègre pour 15 protons, soit les 5 méthyles secondaires.

L'identitié avec le perhydrovernolide a été prouvée par comparaison directe de l'isomère 16b qui a été isolé et cristallisé dans les deux cas*. Les caractéristiques physiques, les spectres R.M.N. et I.R. sont identiques. Le point de fusion du mélange ne présente pas de dépression notable.

. Monohydroxyperhydropectorolide 17 (rendement = 20%) : $C_{19}H_{32}O_5$; c'est un mélange amorphe. Son spectre I.R. présente une bande OH (3500cm^{-1}) et son spectre de masse est en accord avec la structure proposée : pics à m/e=340 (M^+.) ; 322 (M-18) ; 297 (M-43) ; 279 (M-43-18) ; 269 (M-71 ; 252 (M-88) ; 71 et 43.

---

* L'hydrogénation du vernolide a été réalisée au laboratoire lors de l'étude du vernolide. Les produits obtenus sont décrits dans la thèse d'Université de M. C.M. HO soutenue à Orsay (91400), le 15 mars 1974 (N° 166).

· Dihydroxyperhydropectorolide 18 (rendement = 8%) : $C_{19}H_{32}O_6$; c'est un liquide amorphe, mélange de plusieurs stéréoisomères. L'analyse centésimale donne sa formule brute. Son spectre de masse est en accord avec la structure proposée : absence de pic moléculaire, pics à m/e=338 (M-18) ; 323 (M-18-15) ; 268 (M-88) ; 250 (M-88-18) ; 71 et 43.

b) Conclusions :

L'obtention du perhydropectorolide 16, identique au perhydrovernolide, confirme le squelette germacranolide du pectorolide, permet de préciser les positions respectives de la lactone et de l'ester et renseigne sur les stéréochimies des protons H-6, H-7 et H-8.

Des expériences de découplage des protons du pectorolide confirment cette structure (Tableau I, page 26 et figure III, page 26) : les valeurs fortes observées pour les constantes de couplage $J_{7,8} = J_{7,6} = 9Hz$ entériment la disposition "trans" des hydrogènes H-6, H-7 et H-8 et la constante de couplage $J_{5,6} = 9Hz$ suggère une disposition trans des protons H-6 et H-5 (56).

D'autre part, la courbe de dichroïsme circulaire du pectorolide présente un effet Cotton négatif à 262nm ($\Delta\varepsilon=-1,11$) en accord avec une fusion trans de la γ-lactone (32).

Il ne restait donc à déterminer que la configuration des deux doubles liaisons et la conformation du macrocycle.

III - CONFIGURATION DES DOUBLES LIAISONS 1(10), 4(5)

L'étude du pectorolide par mesure des effets Overhauser n'est pas possible du fait du recouvrement sur le spectre de R.M.N. des méthylènes 14 et 15 et des protons 1 et 6 ; son caractère amorphe n'en permet pas l'étude cristallographique.

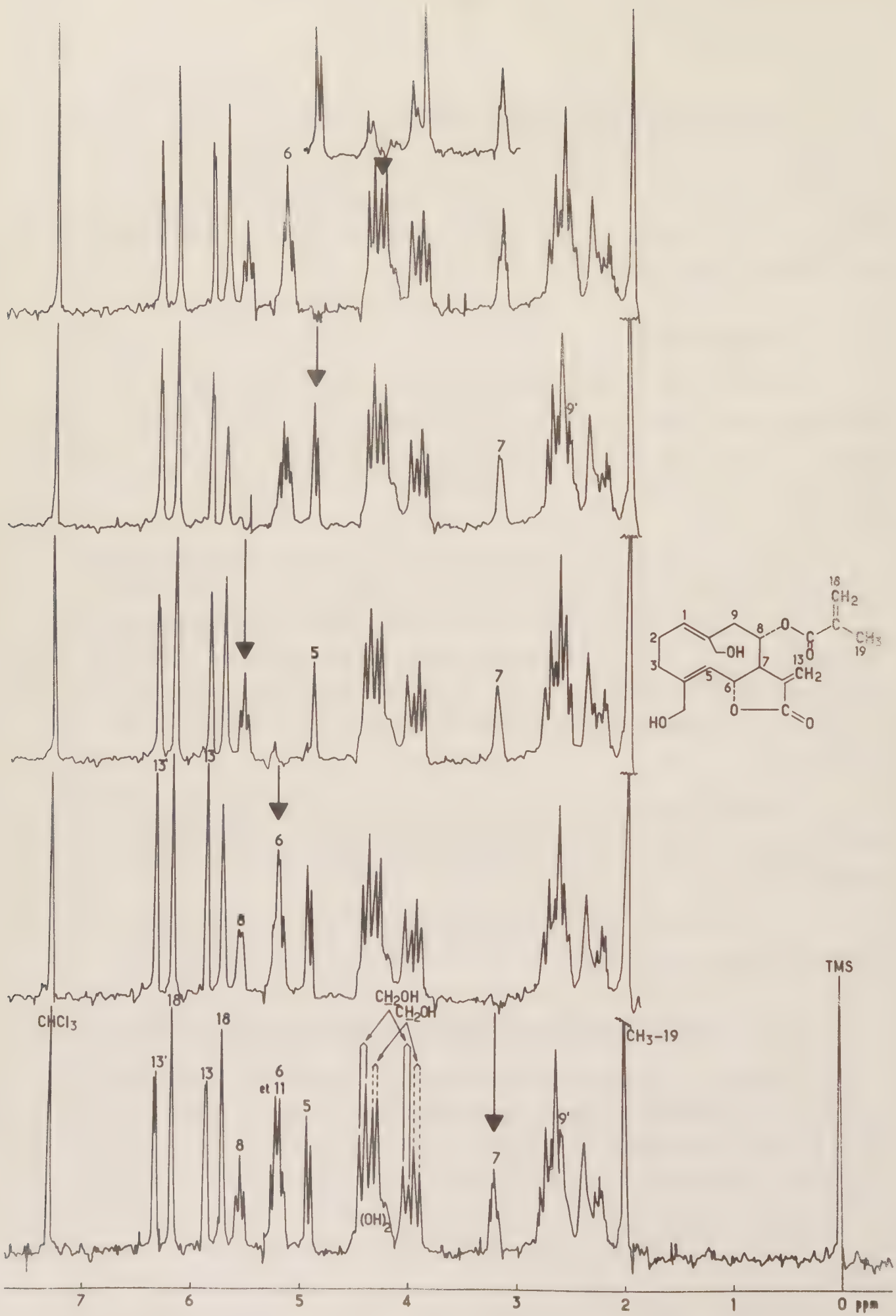
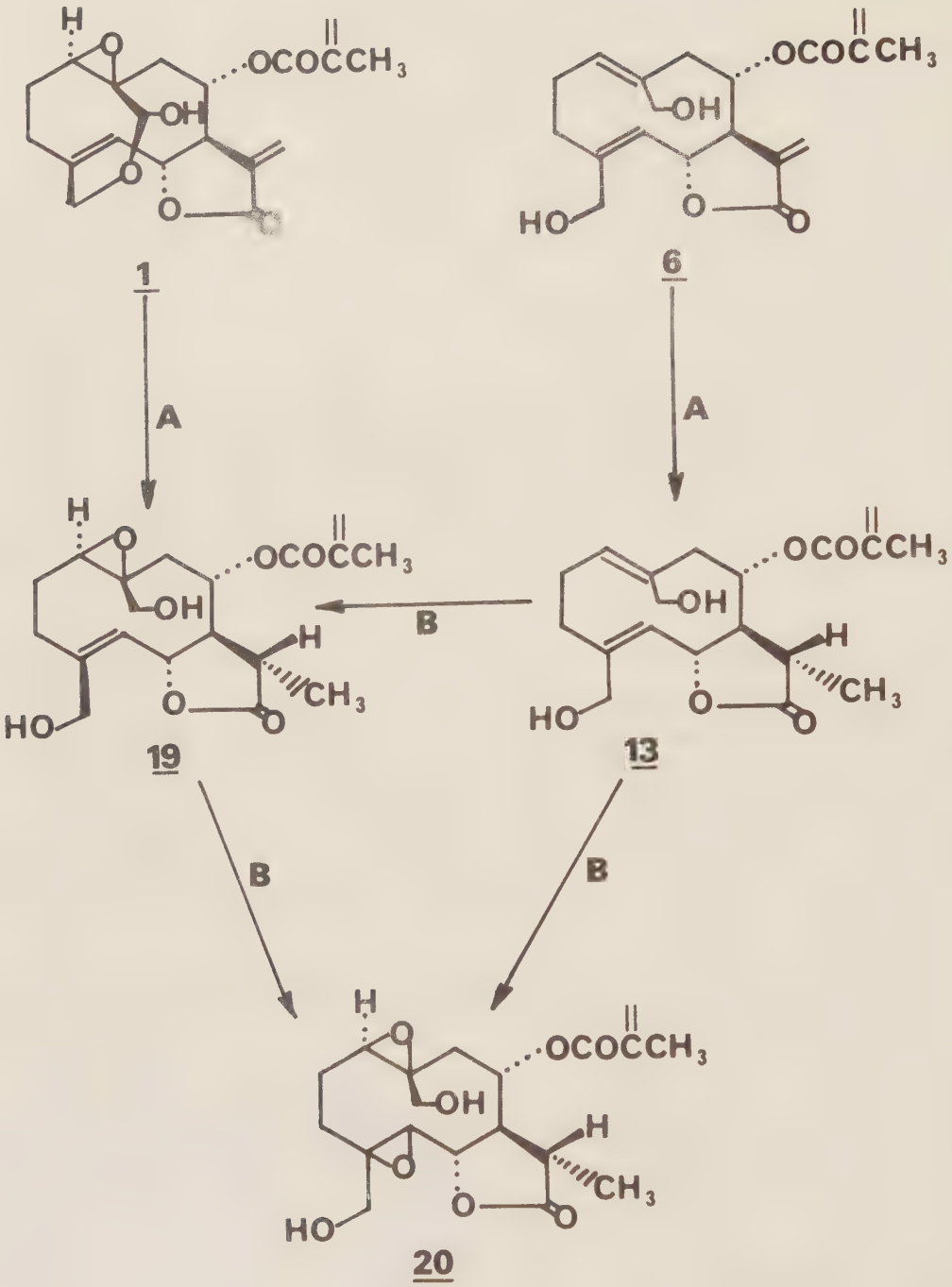


FIGURE III : Découplage du pectorolide 6 ($CDCl_3$, 240MHz)

Signal irradié	Signal perturbé	Changement observé	Conclusions
H-7 (3,20)	H-6 (5,18) m confondu avec H-1	signal simplifié	
	H-8 (5,55) t 9	d 9	$J_{7,8} = 9$
	H-13 (5,85) d 3	s	$J_{7,13} = 3$
	H-13' (6,33) d 3,5	s	$J_{7,13'} = 3,5$
H-13' (6,33)	H-7 (3,20) m	signal simplifié	
H-6, H-1 (5,18)	H-7 (3,20) m	signal simplifié	
	H-5 (4,91) d 9	s	$J_{6,5} = 9$
	H-2(2,77-2,43)m	signal perturbé	
H-5 (4,91)	H-6 (5,18) m	signal simplifié	
H-8 (5,55)	H-7 (3,20) m	signal simplifié	
	H-9' (2,65) m	signal perturbé	
H-9' (2,65)	H-8 (5,55) t 9	d 9	$J_{9,8} = 9$
	H-9 (2,25) m	signal simplifié	
CH_2OH (4,29)	3,90 d 12	s	système AB J=12
CH_2OH (4,41)	4,01 d 14	s	système AB J=14

TABLEAU I

Découplage du pectorolide 6 ($CDCl_3$, 240MHz)



A = réduction par $NaBH_4$

B = époxydation

Nous avons donc été amenés à utiliser les grandes analogies structurales existant entre le vernolide 1 et le pectorolide 6 (voir le tableau de R.M.N. du ^{1}H, page 31 et du ^{13}C, page 37) et à procéder par corrélation de structure entre ces deux produits (schéma page ci-contre).

Le diol 19, $C_{19}H_{26}O_7$, F=136-138°, $[\alpha]_D$=+111° (c=1 ; chloroforme) avait été précédemment obtenu au laboratoire par action du borohydrure de sodium sur le vernolide : au-delà de la réduction attendue du méthylène de la γ-lactone le cycle hémiacétalique est ouvert et réduit (57).

Ce produit ne diffère du dihydropectorolide 13 que par un époxyde 1 (10) au lieu d'une double liaison.

Nous avons donc entrepris d'époxyder le dihydropectorolide 13 et le diol 19 afin d'obtenir le même dérivé 20.

a) Réduction par $NaBH_4$

Cette réaction est dans tous les cas quasi quantitative et très sélective (58).

Le dihydropectorolide 13 obtenu par action du borohydrure de sodium sur le pectorolide a été décrit page 21 . Un des stéréoisomères est effectivement prépondérant, cependant, le spectre de R.M.N. du mélange réactionnel obtenu présente les signaux des deux épimères CH_3-13α et CH_3-13β :

. 1,40 d, $J_{H\text{-}13,H\text{-}11}$ = 6,5

. 1,20 d, $J_{H\text{-}13,H\text{-}11}$ = 7,5.

Le spectre de R.M.N. du diol 19 dérivé du vernolide conduit à la même observation :

. 1,38 d, $J_{H\text{-}13,H\text{-}11}$ = 6,5,

. 1,24 d, $J_{H\text{-}13,H\text{-}11}$ = 7,5.

Après chromatographie l'isomère prépondérant ne montre plus que le doublet à 1,40 (1,38 pour le dérivé du vernolide).

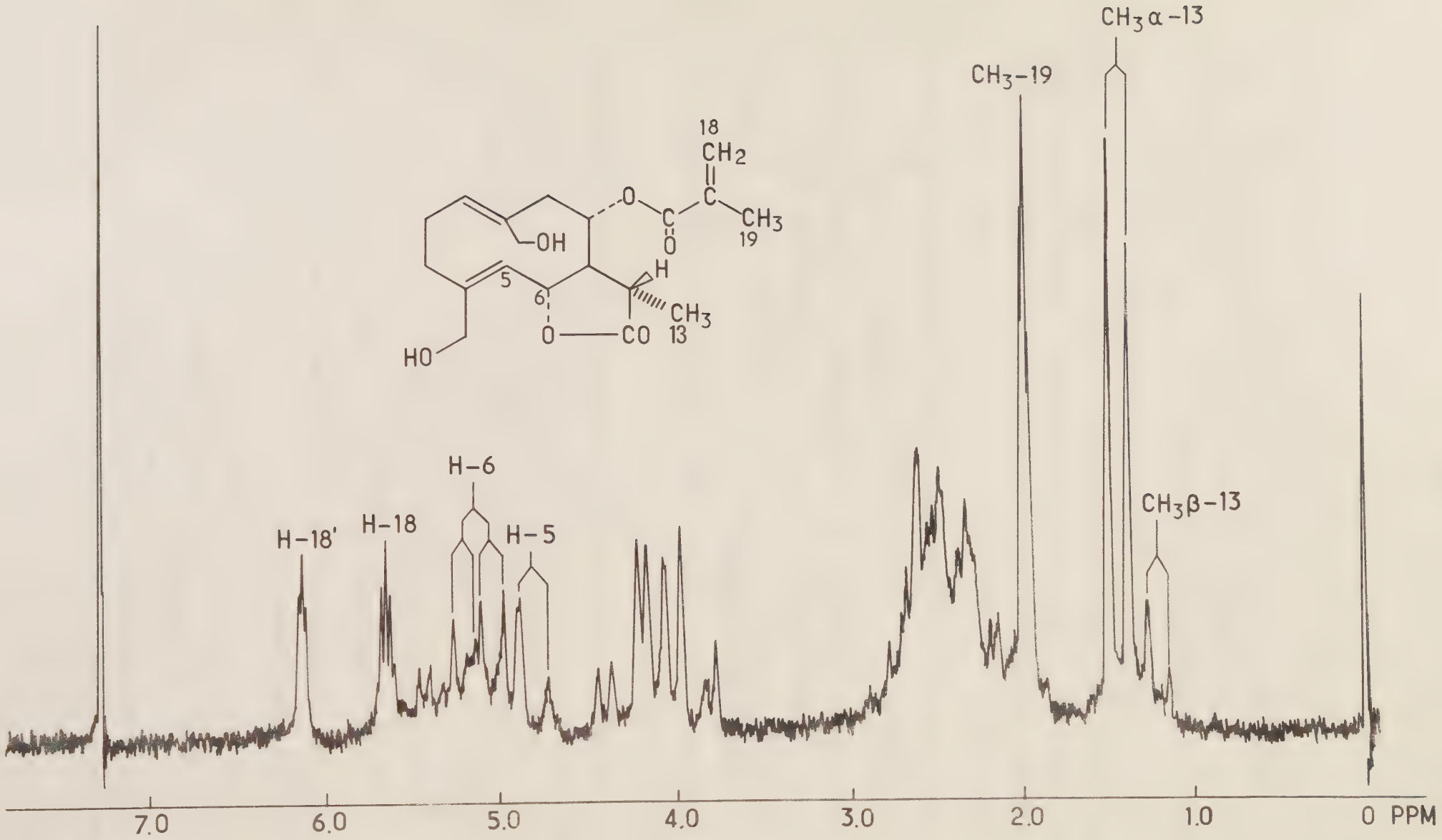


FIGURE IV : Spectre de R.M.N. du dihydropectorolide 13 ($CDCl_3$, 60MHz)

Le doublet de l'épimère CH_3-13α étant à champs plus faibles que le doublet de l'épimère CH_3-13β (59) et la constante de couplage $J_{H-13,H-11}$ étant légèrement plus faible pour l'épimère α que pour l'épimère β (60), nous avons donc isolé, dans les deux cas, le même épimère CH_3-13α.

b) Epoxydation

L'action de l'acide paranitroperbenzoïque sur le diol 19 fournit le monoépoxydiol 20 (52) (rendement = 62%), $C_{19}H_{24}O_8$, F=189-190°, $[\alpha]_D$=-35 (c=1 ; dioxanne). Le spectre de R.M.N. de ce composé comparé à celui du diol 19 montre l'apparition d'un doublet à 3,02 (J=9Hz) et la disparition du doublet du proton oléfinique situé à 5,32. On enregistre aussi le déplacement diamagnétique du proton H-6 initialement allylique de 5,12 à 4,77ppm.

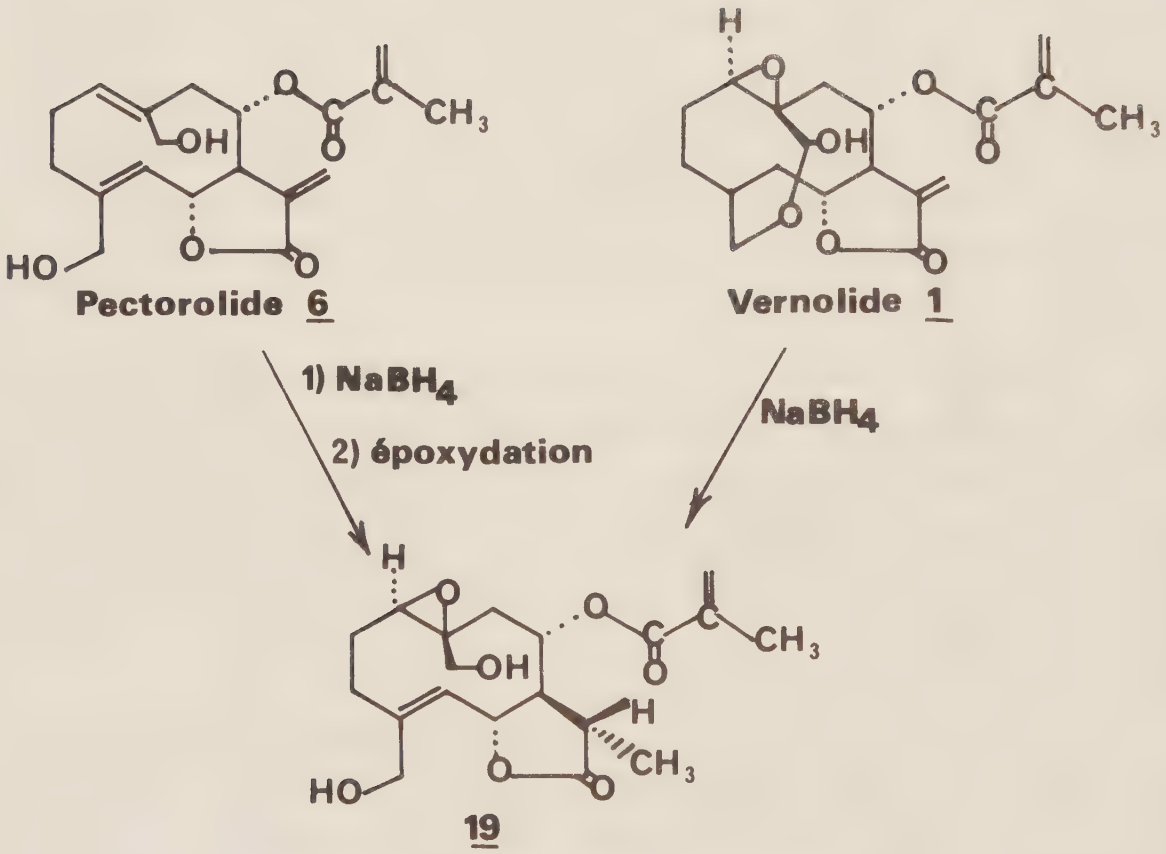
Cette même réaction effectuée sur le dihydropectorolide 13 conduit respectivement au monoépoxydihydropectorolide 19 (rendement = 11%) et au diépoxydihydropectorolide 20 (rendement = 41%). Bien que la chromatographie sur couche mince montre plusieurs impuretés au niveau des dérivés monoépoxydés 19 et diépoxydés 20, l'isolement sur colonne suivi de cristallisation livre un seul stéréoisomère*.

La concordance des comportements chromatographiques, des caractéristiques physiques et des données spectrales (R.M.N., I.R.) des produits issus du vernolide et du pectorolide permet d'identifier le diépoxydihydropectorolide avec le monoépoxydiol dérivé du vernolide 19 et le monoépoxydihydropectorolide avec le diol dérivé du vernolide 20**.

---

* La stéréosélectivité de l'époxydation s'explique par la conformation des trans, trans 1(10, 4(5) cyclodécadiènes : les doubles liaisons sont disposées perpendiculairement au plan du cycle à 10 chaînons et seule une des faces tournées vers l'extérieur est accessible au peracide (61).

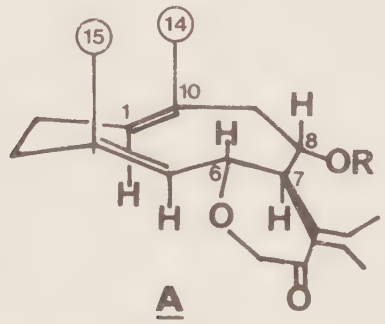
** L'époxydation préférentielle de la double liaison 1(10) est connue (62).


Pectorolide 6
Vernolide 1
1) NaBH4
2) époxydation
NaBH4
19

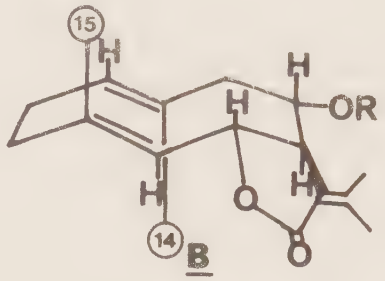
Ces corrélations confirment la stéréochimie des carbones 6, 7 et 8 et prouvent la configuration trans des doubles liaisons du pectorolide.

IV - CONFORMATION DU PECTOROLIDE

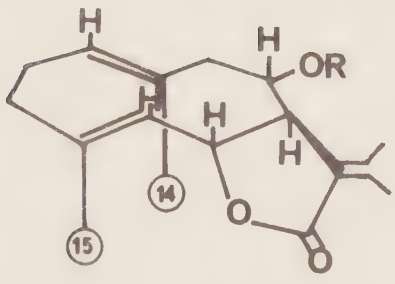
Les conformations adoptées par les trans, trans 1(10), 4(5) cyclodécadiènes sont bien connues (63)(64) et se limitent à 4 conformères de base A, B, C et D qui diffèrent par la disposition des carbones 14 et 15 et s'interconvertissent par une rotation de 180° des doubles liaisons.



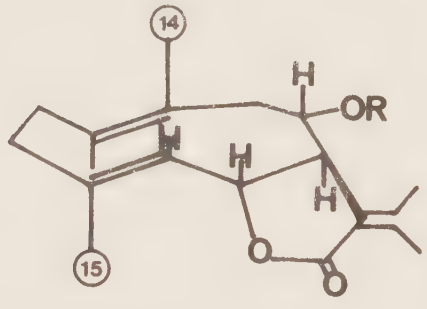
A



B



C

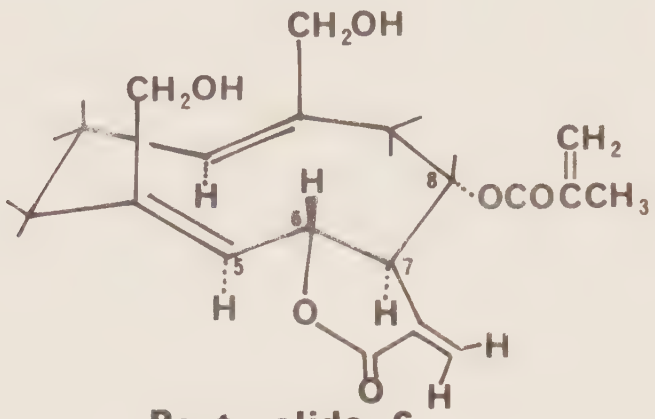


D

Les conformères C et D pouvaient être éliminés dans le cas du pectorolide compte tenu de la valeur enregistrée pour la constante de couplage $J_{5,6}$=9Hz supposant une disposition trans des hydrogènes concernés (56).

Quant à la conformation B elle n'est pas compatible avec le caractère β du carbone 14 du pectorolide déterminé par l'identité du monoépoxydihydropectorolide avec le diol 19 dérivé du vernolide (schéma ci-contre).

La conformation du pectorolide se ramène donc à la conformation A la plus répandue pour ces macrocycles (65) :



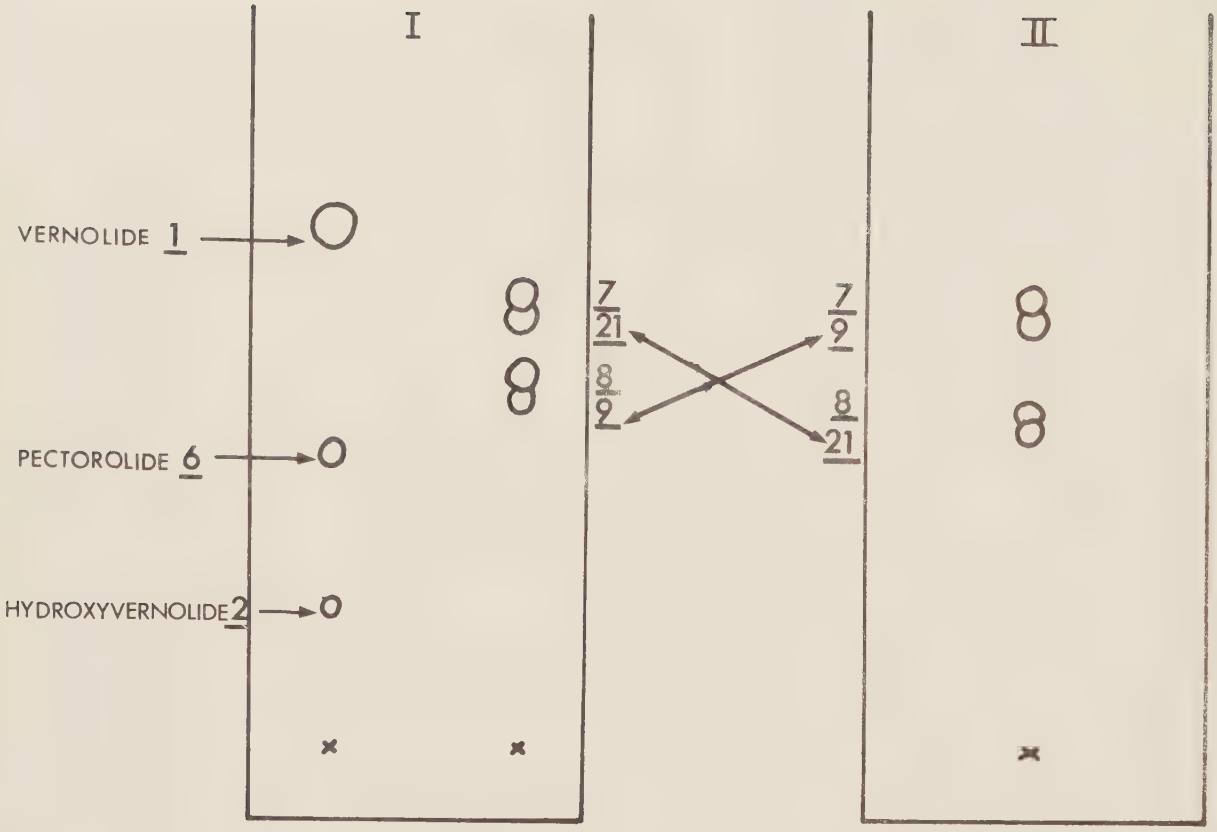
Pectorolide 6

ce qui est en accord avec la présence d'une bande en dichroïsme circulaire [transition $\pi \rightarrow \pi^*$ à 220nm avec $\Delta\varepsilon_{220}$=+84,0 pour le pectorolide 6 et $\Delta\varepsilon_{220}$=+22,7 pour le dihydropectorolide 13] caractéristique de la conjugaison transannulaire des deux doubles liaisons du macrocycle (66)(67).

Nom	H-13'	H-13	H-18'	H-18	H-1	H-5	H-6	H-7	H-8	$-CH_2-OH$ (4H)	OH	CH_3-19 (3H)	Autres protons
Pectorolide 6 (a)	6,30 dd 3,5;0,8	5,79 dd 3;0,8	6,12 m	5,67 m	5,60-5,00 m	4,87 d 9,5	5,60-5,00 m	3,17 tt 8,5;3,5	5,60-5,00 m	4,28 et 3,88 d 12 4,36 et 3,96 d 14	3,75 m (2H)	1,97 s élargi	
(b)	6,33 d 3,5	5,85 d 3	6,18 s élargi	5,72 s élargi	5,18 m	4,91 d 9	5,18 m	3,20 m	5,55 t 9	4,29 et 3,90 d 12 4,41 et 4,01 d 14	4,20 m (2H)	1,99 s élargi	
Vernolide 1 (a)	6,33 dd 3,5;0;5	5,90 dd 3;0,5	6,12 m	5,66 m	-	5,58 d 10,5	5,25 dd 9;10,5	3,10 m	5,70 td 2;10;10	-	-	1,96 s élargi	$-CH_2-O$ 3,65 et 4,[illegible] dd 14 et >1 H-COH 4,56 s élargi
Dihydro-pectorolide 13 (a)	-	-	6,14 m	5,65 m	5,30 m	4,80 d 10	5,11 dd 10;8	2,55 m	5,50 m	4,33 et 3,94 d 14 4,26 et 3,87 d 12	2,60 m	1,[illegible] s élargi	CH_3-13 (3H) 1,40 d 7
Diacétyl-pectorolide 14 (a)	6,28 dd 3,5;1	5,74 dd 3;1	6,12 m	5,64 m	5,40-4,95 m	5,40-4,95 m	5,40-4,25 m	3,13 m	5,40-4,95 m	4,64 et 4,36 dd 13;1 4,60 (2H) s élargi	-	1,96 s élargi	$-OCOCH_3$ (3H) 2,13 s élargi 2,10 s élargi
Diépoxy-pectorolide 15 (c)	6,30 d 3,5	5,69 d 3	6,05 m	5,58 m	2,75 m	3,02 d 9,5	4,94 dd 8;9,5	3,15 m	5,20 m	4,06 et 3,91 d 13 3,85 (2H) s élargi	4,10 m	1,98 s élargi	
Perhydro-pectorolide 16b (a)	-	-	-	-	-	-	4,56 m ou 4,83 m		4,56 m ou 4,83 m	-			CH_3-CH (3H) 1,2 d 6,5 1,12 d 6,0 1,18 (6H) d 7 1,25 d 7
Perhydro-pectorolide 16d (a)	-	-	-	-	-	-	4,60-5,20 m		4,60-5,20 m				CH_3-CH (3H) 0,91 d 6 1,00 d 6 1,14 d 7 1,20 (6H) d [illegible]
Monoépoxydihydro-pectorolide 19 (a)	-	-	6,13 m	5,67 m	5,55 m	5,32 d 10	5,12 dd 10;8			4,44 et 4,11 d 14 3,82 et 3,67 d 12		1,97 s élargi	CH_3-13 (3H) 1,38 d 6,5
Diépoxydihydro-pectorolide 20 (d)	-	-	6,13 s élargi	5,62 m		3,02 d 9			5,48 m	3,98 (2H) s élargi 3,91 et 4,09 d 12		1,95 s élargi	CH_3-13 1,37 d 6,5

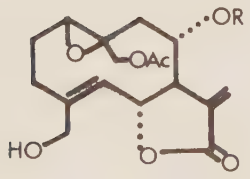
(a) 60MHz $CDCl_3$ (c) 60MHz $CDCl_3$ + pyridine
(b) 240MHz $CDCl_3$ (d) 90MHz $CDCl_3$ + pyridine

TABLEAU II : Déplacements chimiques des protons du pectorolide et de ses dérivés

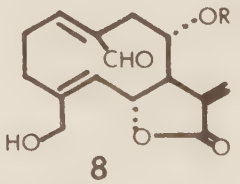


Chromatogramme sur couche mince

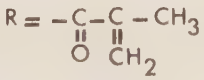
Solvant de développement { I : chloroforme/acétone (4/1)
II : hexane/acétate d'éthyle (1/1)

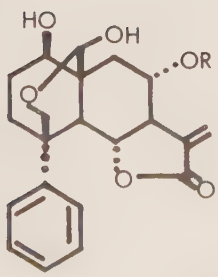


7

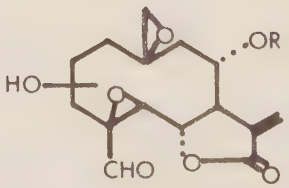


8





9



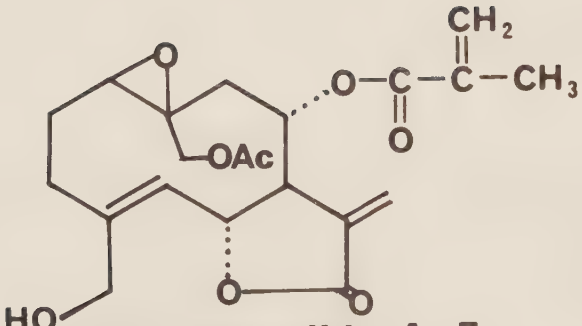
21

ISOLEMENT DES VERNOPECTOLIDES-A, -B et -C ET DU VERNODESMINE

Les nombreuses chromatographies nécessaires pour purifier le pectorolide nous ont permis d'accumuler diverses fractions dont la séparation nous a permis d'isoler quatre autres lactones sesquiterpéniques, présentes en faible quantité dans la plante.

Leur purification a pu être réalisée grâce à la mise en évidence d'un ordre différent de leurs polarités dans deux systèmes de développement différents (représentation page ci-contre) :

La succession de deux chromatographies sur colonne avec, pour éluant, chacun de ces systèmes de solvant permet d'isoler le vernopectolide-A 7 (rendement = 0,1%), le vernopectolide-B 8 (rendement = 0,03%), le vernopectolide-C 21 (rendement = 0,02%) et le vernodesmine 9 (rendement = 0,04%). Les deux premiers produits sont des germacranolides amorphes dont les structures présentent de grandes analogies avec celle du pectorolide 6. Le vernodesmine qui est un endesmanolide fait l'objet du chapitre II. Le vernopectolide-C, $C_{19}H_{22}O_8$, $[\alpha]_D$=+76° (c=0,74 ; chloroforme) est un produit amorphe, présent en très faible quantité dans la plante ; sa purification n'a conduit qu'à 7mg de produit. La structure partielle 21 est suggérée essentiellement sur les données de la R.M.N. et ne sera décrite que dans la partie expérimentale, page 115).



Vernopectolide-A 7

B - STRUCTURE DU VERNOPECTOLIDE-A 7

Le vernopectolide-A 7, $C_{21}H_{26}O_8$, $[\alpha]_D$=+78° (c=0,8 ; chloroforme) est un produit amorphe qui se dégrade rapidement à température ambiante.

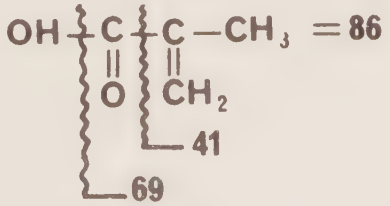
Sa formule brute découle des données conjuguées de l'analyse centésimale, du spectre de masse et du spectre de R.M.N. du carbone-13 (Tableau IV, page 37).

Un protocole d'investigation de structure similaire à celui développé pour le pectorolide 6 a été mis en oeuvre : l'analyse des données spectrales fait ressortir immédiatement les grandes analogies de structure entre ce produit, le vernolide 1 et le pectorolide 6. Nous avons donc fait essentiellement des démarches de corrélation.

1 - DONNEES SPECTRALES

. Le spectre ultraviolet du vernopectolide-A présente un maximum à 211nm (ε=24200) (40) et son spectre infrarouge des bandes à 3600 et 3500 (OH), 1765 et 1650 (γ-lactone, α, β insaturée), 1740 (ester), 1635 (insaturation), 1720 et 1240cm^{-1} (acétate) (68).

. La présence d'un hydroxyle, d'un acétate et de l'ester α-méthyle acrylique est confirmée par le spectre de masse : $M^{+\cdot}$ absent, et pics à m/e=346 (M-60), 328 (M-60-18), 320 (M-86), 260 (M-86-60), 242 (M-86-60-18), 69 et 41.



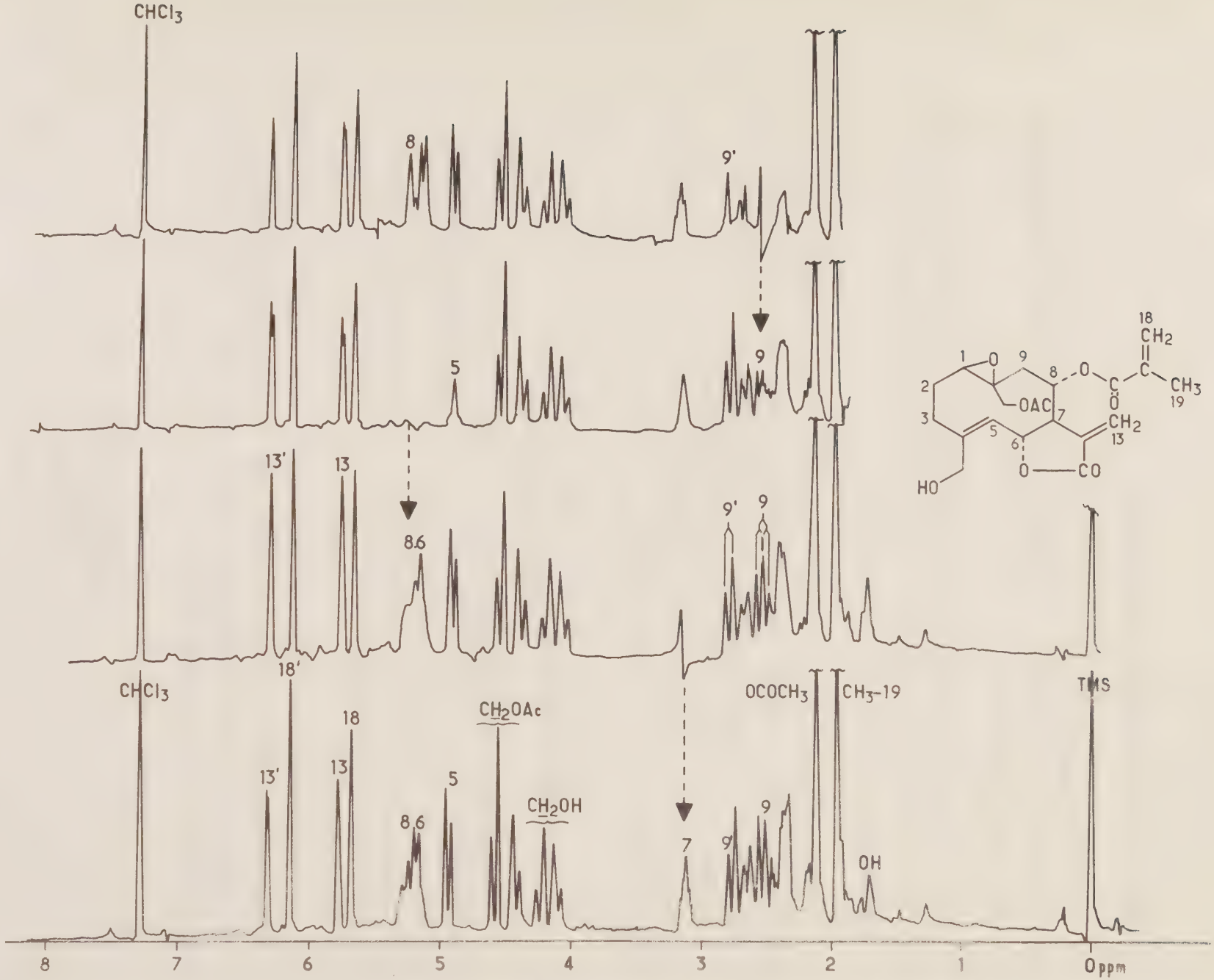
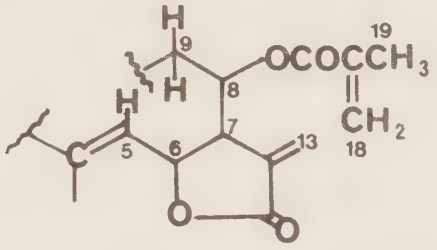


FIGURE V : Spectres de R.M.N. et de double résonance magnétique du verrucosidol-A ($CDCl_3$, 240MHz)

. Le spectre de R.M.N. montre de grandes analogies avec le pectorolide 6 et le vernolide 1, on retrouve, en particulier, les signaux dûs aux protons de l'ester, de la γ-lactone exométhylénique de H-5, H-9 et H-9' et ceux de deux groupements $-C\underline{H}_2O-$ (Tableau VII, page 48).

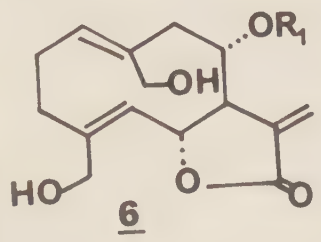
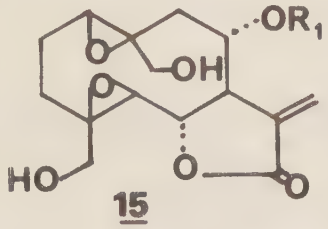
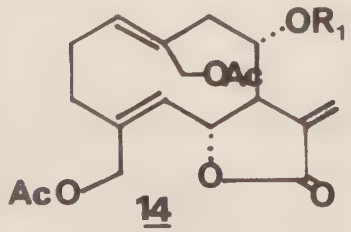
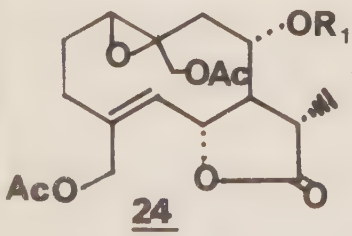
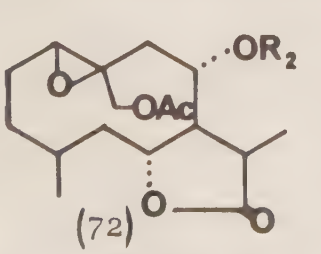


Une confirmation de l'attribution des protons respectifs est réalisée par découplage (240MHz ; $CDCl_3+D_2O$).

Signal irradié	Signal perturbé	Changement observé	Conclusions
H-7 (3,12)	H-6 et H-8 m de 5,10 à 5,30	m simplifié	
H-6;H-8 (5,20)	H-5 d 4,94 (10) H-9 dd 2,52 (13 ; 10,5) H-7 m 3,12	s d m simplifié	$J_{6,5}$ = 10 $J_{8,9}$ = 10,5
H-9 (2,52)	H-8 m 5,20-5,30 H-9' d 2,78 (13)	m simplifié s	$J_{9,9'}$ = 13

A 2,09 le signal du méthyle d'un acétate est visible et le spectre de R.M.N. du vernopectolide-A dans le diméthylsulfoxyde sec confirme la présence d'un alcool primaire et d'un acétate primaire (69) :

. $C\underline{H}_2OH$ { 4,13 dd (14 et 6)
{ 3,91 dd (14 et 6)

Produits	Déplacements chimiques des protons CH_2O	Conclusions pour le vernopectolide-A
 **6**	2H d à 4,29 et 3,80 J=12Hz 2H d à 4,41 et 4,01 J=14Hz	Déplacement du CH_2OH en faveur de A
 **15**	2H d à 4,06 et 3,91 J=12Hz 2H s élargi à 3,85	
 **14**	2H d à 4,64 et 4,36 J=13Hz 2H s élargi à 4,60	Déplacement du CH_2OAc compatible avec A et B
 **24**	2H s élargi à 4,76 2H d à 4,37 et 3,82 J=13Hz	
 (72)	2H d à 4,56 et 4,02 J=12Hz	

$R_1 = COC(=CH_2)CH_3$ $R_2 = COCH(CH_3)CH_3$

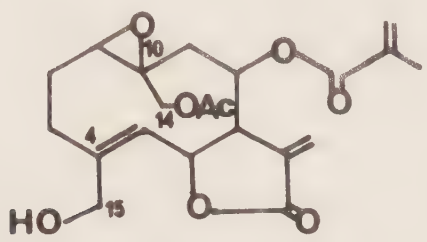
TABLEAU III

Données comparatives des déplacements chimiques des protons CH_2OH et CH_2OAc liés à une double liaison ou à un époxyde.

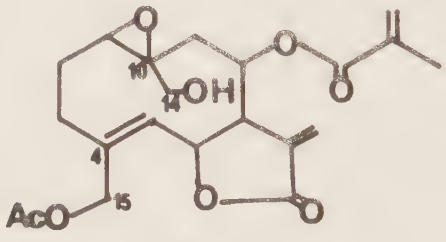
. $C\underline{H}_2OAc$ $\begin{cases} 4,66 \text{ d } (12) \\ 4,43 \text{ d } (12). \end{cases}$

Pour rendre compte de la formule brute du vernopectolide-A, la nature du dernier oxygène reste à préciser. L'absence en dichroïsme circulaire de bande C=O à 290nm suggère qu'il existe sous forme d'un éther (70) et plus précisément d'un époxyde comme dans le vernolide 1.

Deux formules planes A et B peuvent donc être envisagées :



A



B

Le choix entre ces deux formules consiste à déterminer les positions relatives de l'alcool et de l'acétate.

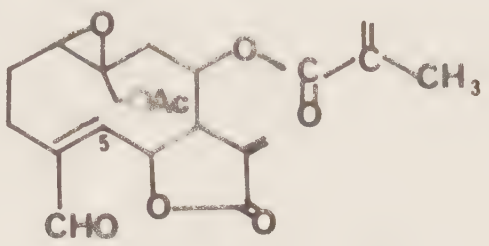
Le déplacement chimique des protons $-C\underline{H}_2OH$ et $-C\underline{H}_2OAc$ n'est pas déterminant pour faire un choix entre A et B (71). Cependant le déplacement chimique des protons du groupe $C\underline{H}_2OH$ est en faveur de la formule A (Tableau III ci-contre).

Vernopectolide-A $\begin{cases} C\underline{H}_2OH \text{ d à } 4,25 \text{ et } 4,10, \text{ J=14Hz}, \\ C\underline{H}_2OAc \text{ d à } 4,60 \text{ et } 4,43, \text{ J=12Hz}. \end{cases}$

Vu l'absence d'arguments déterminants nous avons oxydé le vernopectolide-A.

2 - OXYDATION DU VERNOPECTOLIDE-A

L'action du bioxyde de manganèse sur le vernopectolide-A 7 conduit à l'aldéhyde α, β insaturé 22 (73), $C_{21}H_{24}O_8$, amorphe, $[\alpha]_D$=+112° (c=1,18 ; chloroforme).



22

Son spectre ultraviolet présente le maximum habituel à 214nm (ε=23300) et un épaulement à 235nm (ε=11600) (74) ; le spectre infrarouge montre une bande supplémentaire à 1685cm^{-1} (75) et l'absence de bande hydroxyle.

Son spectre de R.M.N. ne montre plus le système AB du groupement $C\underline{H}_2OH$ mais à 10,00 on observe un singulet élargi attribuable au proton aldéhydique (76). On observe aussi le déplacement paramagnétique à 6,03 du doublet attribué au proton H-5 (77).

L'obtention de ce produit prouve le caractère allylique de l'alcool primaire du vernopectolide-A et permet de retenir pour ce produit la seule structure A

3 - DONNEES COMPLEMENTAIRES DE LA R.M.N. DU ^{13}C

Afin de confirmer la structure du vernopectolide-A, nous avons comparé son spectre de R.M.N. du ^{13}C avec ceux du vernolide 1, du pectorolide 6 et du monoépoxydihydropectorolide 19 (Figure VI et Tableau IV, page 37).

L'identité pour ces quatre produits des déplacements chimiques des signaux attribués aux carbones C-16, C-17, C-18 et C-19 confirme la nature de l'ester.

FIGURE VI : Diagramme de corrélation des déplacements chimiques en R.M.N. du ^{13}C

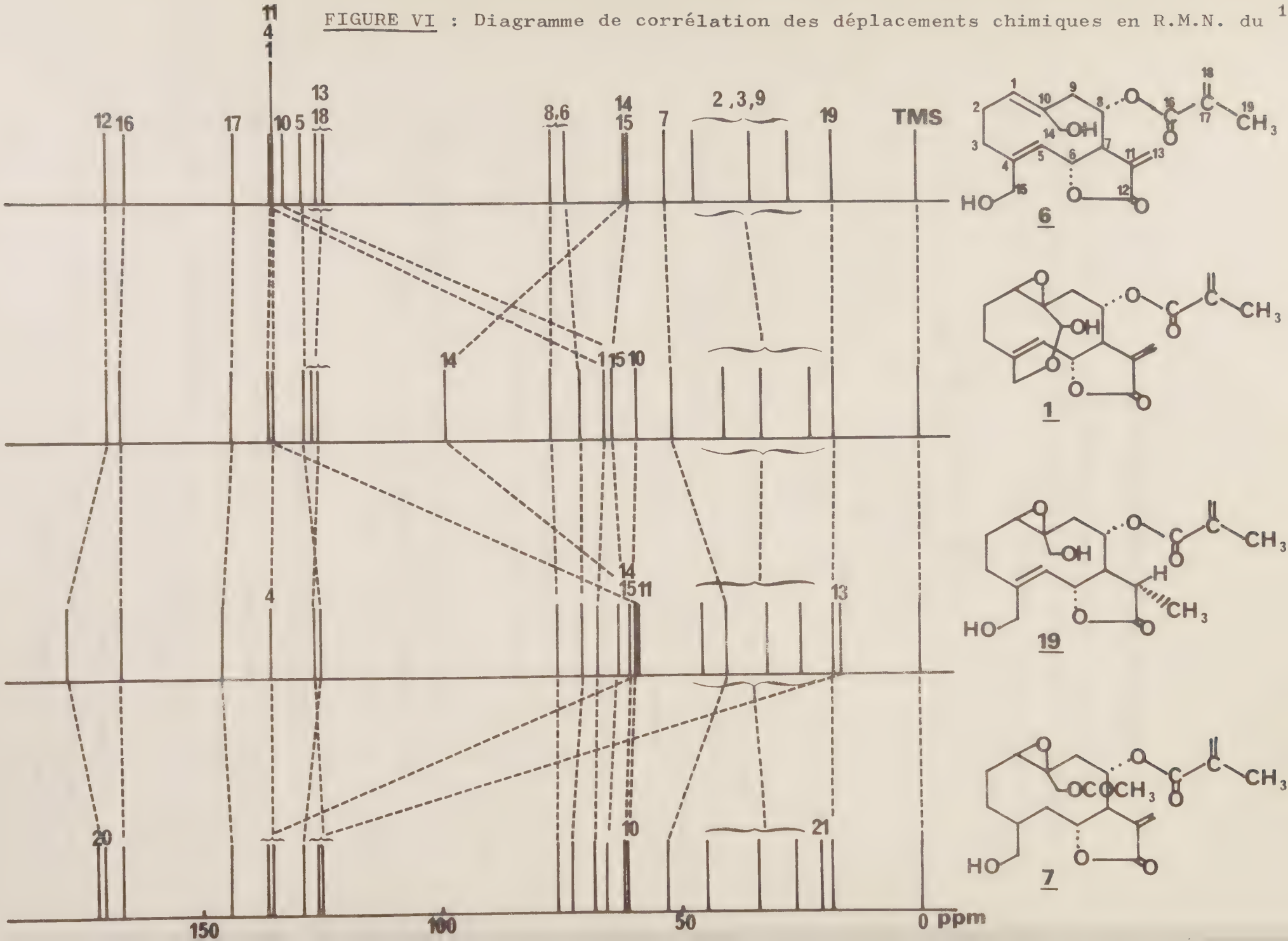
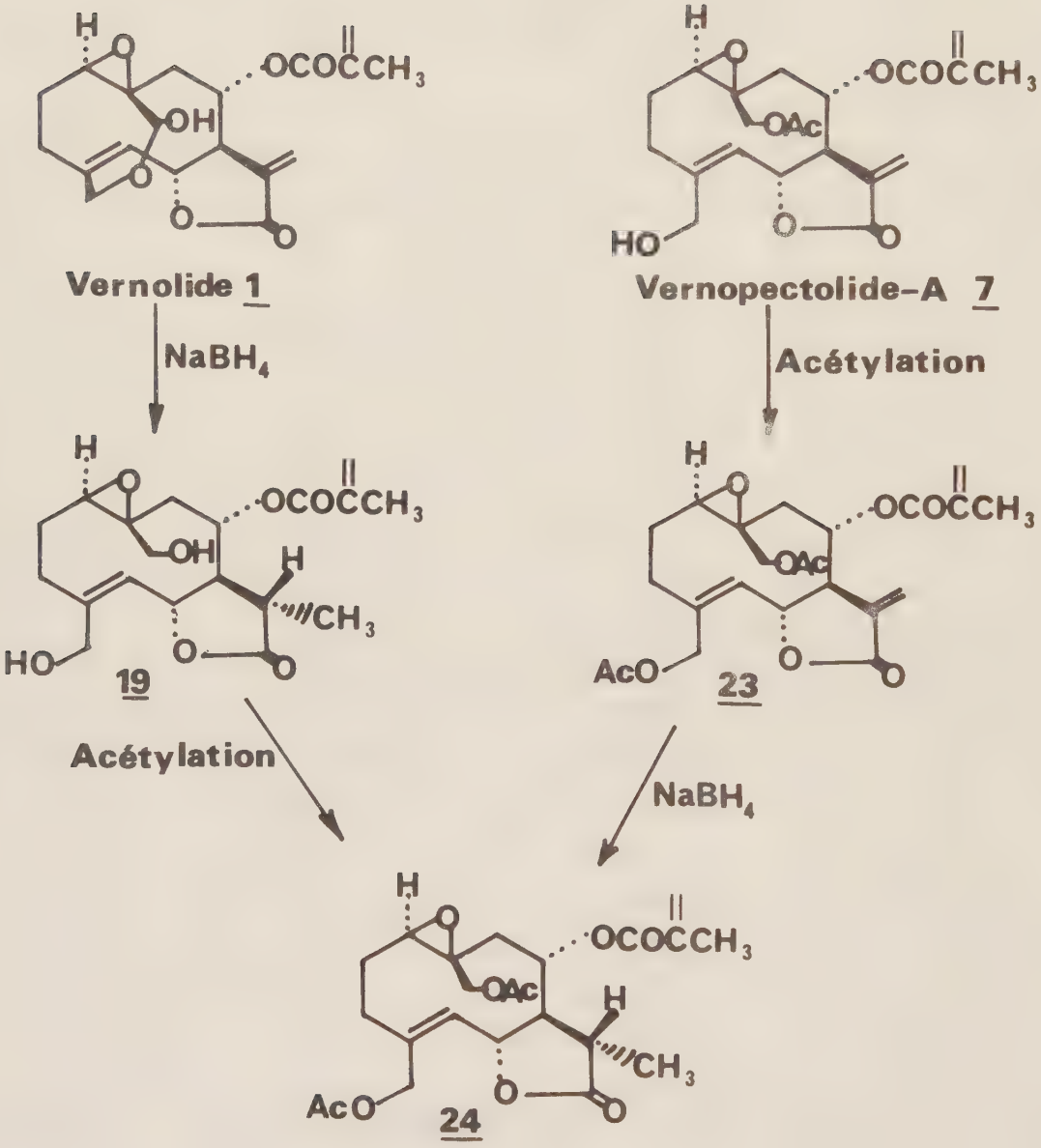


TABLEAU IV

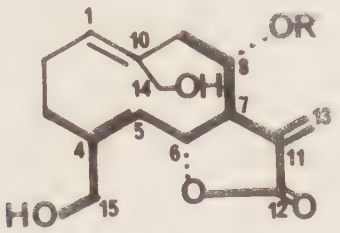
Déplacements chimiques de R.M.N. du ^{13}C

(au sein d'une accolade les carbones ne sont pas respectivement attribués et peuvent être permutés)

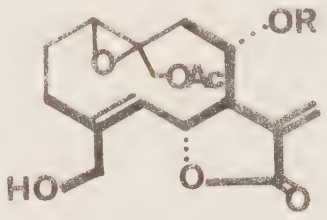
N° du carbone	Pectorolide 6		Vernolide 1		Diol 19		Vernopectolide A 7	
C-19	18,2	q	18,2	q	18,2	q	18,4	q
C-2	27,2	t	22,8	t	24,7	t	26,1	t
C-3	35,1	t	33,3	t	32,2	t	34,3	t
C-9	47,2	t	41,1	t	45,7	t	44,6	t
C-7	52,9	d	51,7	d	59,1	d	53,1	d
C-14	60,4	t	99,0	d	63,1	t	65,6	t
C-15	61,5	t	64,2	t	61,5	t	61,5	t
C-8	73,8	d	70,7	d	70,9	d	73,1	d
C-6	76,9	d	77,4	d	76,2	d	76,0	d
C-1	135,1	d	66,0	d	67,6	d	68,7	d
C-13	124,5	t	125,7	t	16,4	q	125,2	t
C-18	125,9	t	126,9	t	126,5	t	126,3	t
C-5	129,0	d	128,7	d	125,3	d	129,2	d
C-10	132,7	s	58,9	s	59,4	s	62,1	s
C-11	135,3	s	134,9	s	59,2	d	135,1	s
C-4	135,6	s	135,7	s	135,4	s	136,1	s
C-17	143,2	s	143,5	s	145,4	s	143,5	s
C-16	165,8	s	166,8	s	166,5	s	165,9	s
C-12	169,5	s	169,4	s	177,5	s	169,7	s
C-20	de l'acétate						171,0	s
C-21							21,0	q


Vernolide 1
NaBH4
Vernopectolide-A 7
Acétylation
19
23
Acétylation
NaBH4
24

L'identité des signaux dûs aux carbones C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-13 et C-15 dans le vernopectolide-A 7 et le pectorolide 6 confirme la présence de l'alcool allylique Δ4(5) et de la γ-lactone.



6



7

La similitude des signaux dûs aux carbones C-1 et C-10 dans le vernopectolide-A, le diol 19 et le vernolide 1 rend compte de la présence de l'époxyde 1(10).

Dans le vernopectolide-A, l'acétylation au niveau du carbone C-14 se traduit par le léger déplacement paramagnétique de ce signal (78) (65,6 dans le vernopectolide-A 7 et 63,1 dans le monoépoxydihydropectorolide 19).

4 - STEREOCHIMIE DU VERNOPECTOLIDE-A 7

La configuration du vernopectolide-A 7 a été établie par la corrélation du vernopectolide-A acétylé et réduit avec l'acétate du diol 19 précité, dérivé du vernolide 1 (schéma page ci-contre).

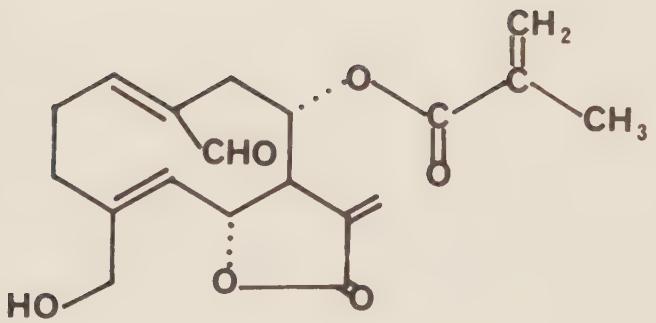
L'action de l'anhydride acétique sur le vernopectolide-A 7 dissous dans la pyridine conduit au monoacétylvernopectolide-A 23, $C_{23}H_{28}O_9$, $[\alpha]_D$=+123° (c=1 ; chloroforme) dont le spectre I.R. est dépourvu de bande hydroxyle.

La réduction de ce produit 23 par le borohydrure de sodium fournit le dihydromonoacétylvernopectolide-A 24, $C_{23}H_{30}O_9$, F=143-145°, $[\alpha]_D$=+67° (c=1 ; chloroforme). La réduction attendue du méthylène exocyclique de la γ-lactone se traduisant sur le spectre

de R.M.N. par l'apparition d'un doublet (3H) à 1,36 (J=7) et l'absence des protons exométhyléniques H-13 et H-13' (51).

L'acétylation du diol 19 dérivé du vernolide 1 (voir caractérisation page 27) conduit à ce même dérivé 24 (spectres I.R. et de R.M.N. identiques, même rotation et point de fusion de mélange sans dépression).

La bande de dichroïsme circulaire du vernopectolide-A 7 à 261nm ($\Delta\varepsilon$=-1,06) est en accord avec la fusion trans de la γ-lactone (32).



Vernopectolide-B 8

C - STRUCTURE DU VERNOPECTOLIDE-B 8

Le vernopectolide-B, $C_{19}H_{32}O_6$, $[\alpha]_D$=+93° (c=1 ; chloroforme) est un produit amorphe, stable à température ambiante, mais qui se dégrade à la chaleur ; il est soluble dans le chloroforme et le méthanol, insoluble dans l'éther éthylique.

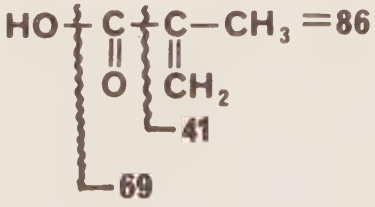
Sa formule brute a été déterminée par analyse élémentaire et confirmée par la spectrométrie de masse : $M^{+\cdot}$=346.

1 - STRUCTURE PLANE

Le spectre ultraviolet du vernopectolide-B 8 présente un maximum à 207nm (ε=23100) avec un épaulement à 235nm (ε=8100) (74) et son spectre infrarouge des bandes à 3600-3500 (OH), 1772 (γ-lactone), 1715 (ester), 1695 (aldéhyde) (75) et 1640cm^{-1} (>C=C<).

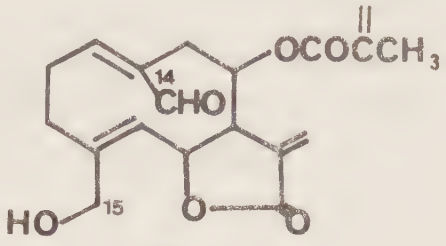
Le spectre de R.M.N. montre de grandes analogies avec celui du pectorolide 6 (Tableau VII, page 48).
Il ne s'en distingue que par la présence d'un proton aldéhydique à 9,58 (d, J=1Hz) (76) et la présence d'une seule fonction alcool primaire à 4,32 (2H, s élargi).

Le spectre de masse confirme la présence d'un aldéhyde, d'une fonction alcool et de l'ester α-méthyle acrylique par les ions à m/e=346 ($M^{+\cdot}$), 260 (M-86), 242 (M-86-18), 213 (M-86-18-29), 69 et 41.



Le déplacement paramagnétique du proton H-1 à 6,60 (t élargi, J=7) (77) montre que l'aldéhyde est α, β insaturé et que c'est le carbone 14 qui est oxydé en aldéhyde.

La formule plane 8 peut donc être proposée pour le vernopectolide-B.



8

Des expériences de découplage (Figure VII et Tableau V, page 42) permettent d'identifier sur le spectre de R.M.N. tous les protons de cette molécule. Leurs enchaînements et leurs déplacements chimiques sont en accord avec la structure proposée.

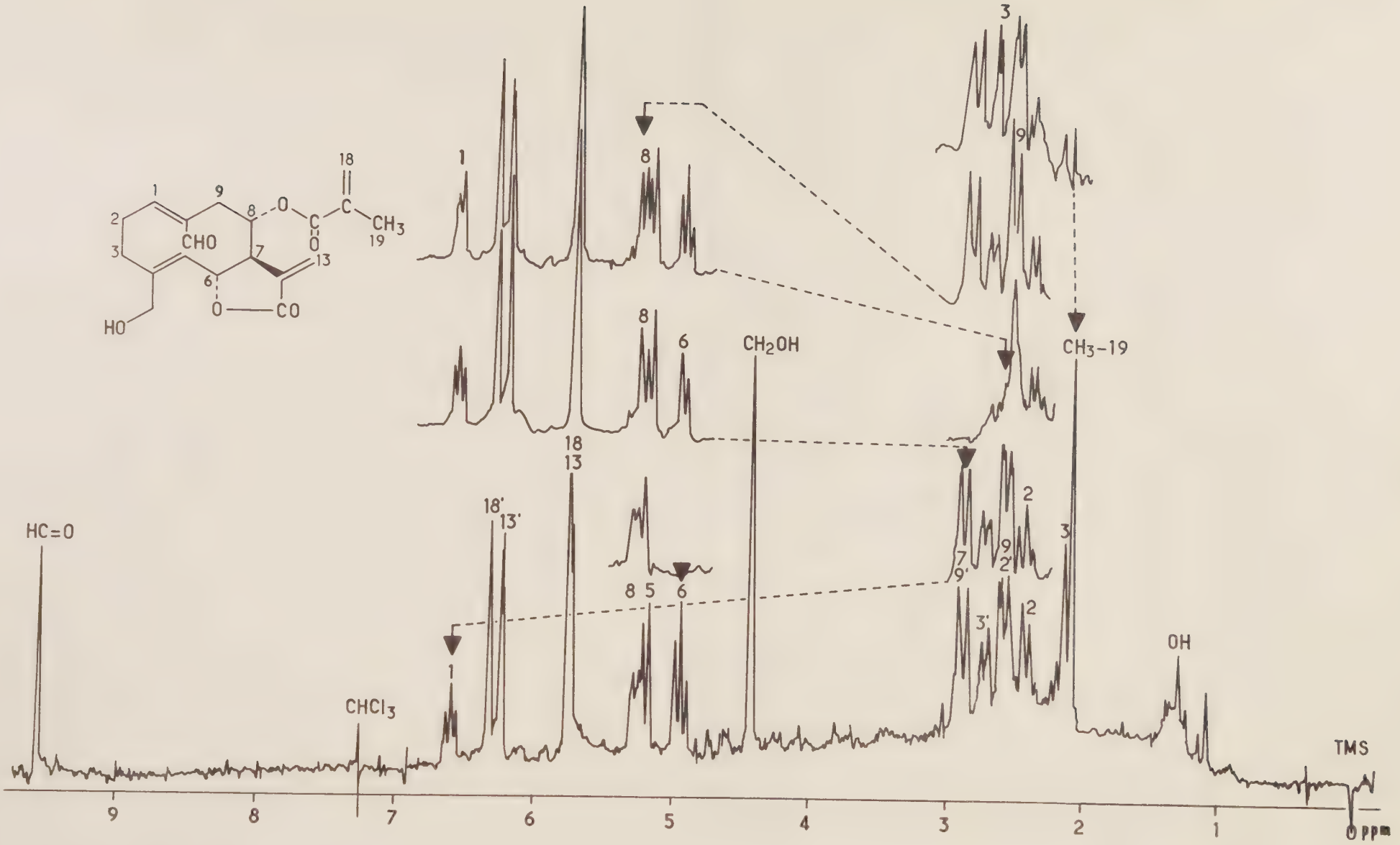
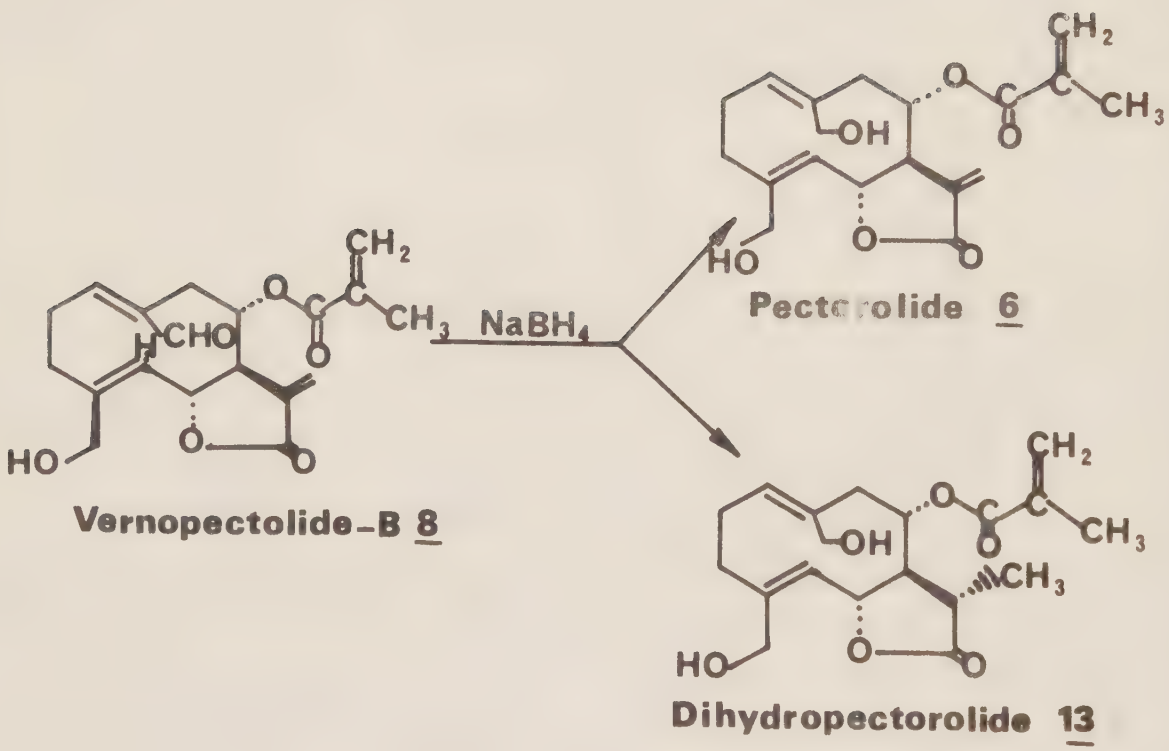


FIGURE VII : Spectres de R.M.N. et de double résonance magnétique nucléaire du vernopectolide-B 8 ($CDCl_3$, 240MHz)

Signal irradié	Signal perturbé	Changement observé	Conclusions
H-6 (4,93)	H-5 d 5,18 (10,5)	s	$J_{6,5} = 10,5$
	H-7 m (3,14)	m simplifié	
H-7 et H-9' (2,90)	H-9 m 2,57	m simplifié	
	H-6 dd 4,93 (10,5 ; 9)	d (10,5)	$J_{7,6} = 9$
	H-8 m 5,26	s élargi	
	H-13' d 6,23 (3,5)	s	$J_{7,13'} = 3,5$
	J-13 d 5,75 (3)	s	$J_{7,13} = 3$
H-1 (6,60)	H-2' m 2,57	m simplifié	$J_{1,2'} = 7$
	H-2 ddd 2,40 (13,7,6)	dd (13 ; 6)	$J_{1,2} = 7$
H-3 (2,00)	H-3' dd 2,72 (6 ; 13)	d (6)	$J_{3,3'} = 13$

TABLEAU V

Expériences de découplage des protons du vernopectolide-B 8 à 240MHz dans $CDCl_3$.


CH2
O
C
C
CH3
OH
HO
O
O
Pectorolide 6
CH2
O
C
C
CH3
CHO
H
O
O
HO
O
NaBH4
Vernopectolide-B 8
CH2
O
C
C
CH3
OH
CH3
HO
O
O
Dihydropectorolide 13

2 - STEREOCHIMIE DU VERNOPECTOLIDE-B

Compte tenu de leur parenté de structure nous avons corrélé le vernopectolide-B 8 avec le pectorolide 6.

La réduction du vernopectolide-B par le borohydrure de sodium conduit à deux produits : le pectorolide 6 (traces) et le dihydropectorolide 13 (rendement = 62%).

Le dihydropectorolide 13 a été caractérisé par comparaison avec un échantillon authentique (même comportement chromatographique, mêmes spectres I.R. et R.M.N., même rotation).

Cette corrélation prouve la nature trans des deux doubles liaisons 1(10) et 4(5) ainsi que les stéréochimies H-5α, H-6β, H-7α et H-8β.

Les grandes constantes de couplage, $J_{5,6}$=10,5Hz et $J_{6,7}$=9Hz, sont en accord avec une disposition transdiaxiale des hydrogènes H-5, H-6 et H-7 (79).

La bande de dichroïsme circulaire à 265nm ($\Delta\varepsilon$=1,63) est compatible avec la fusion trans de la γ-lactone (32). On observe aussi à 318nm une bande correspondant à la transition $n \rightarrow \pi^*$ de l'aldéhyde α, β insaturé (80).

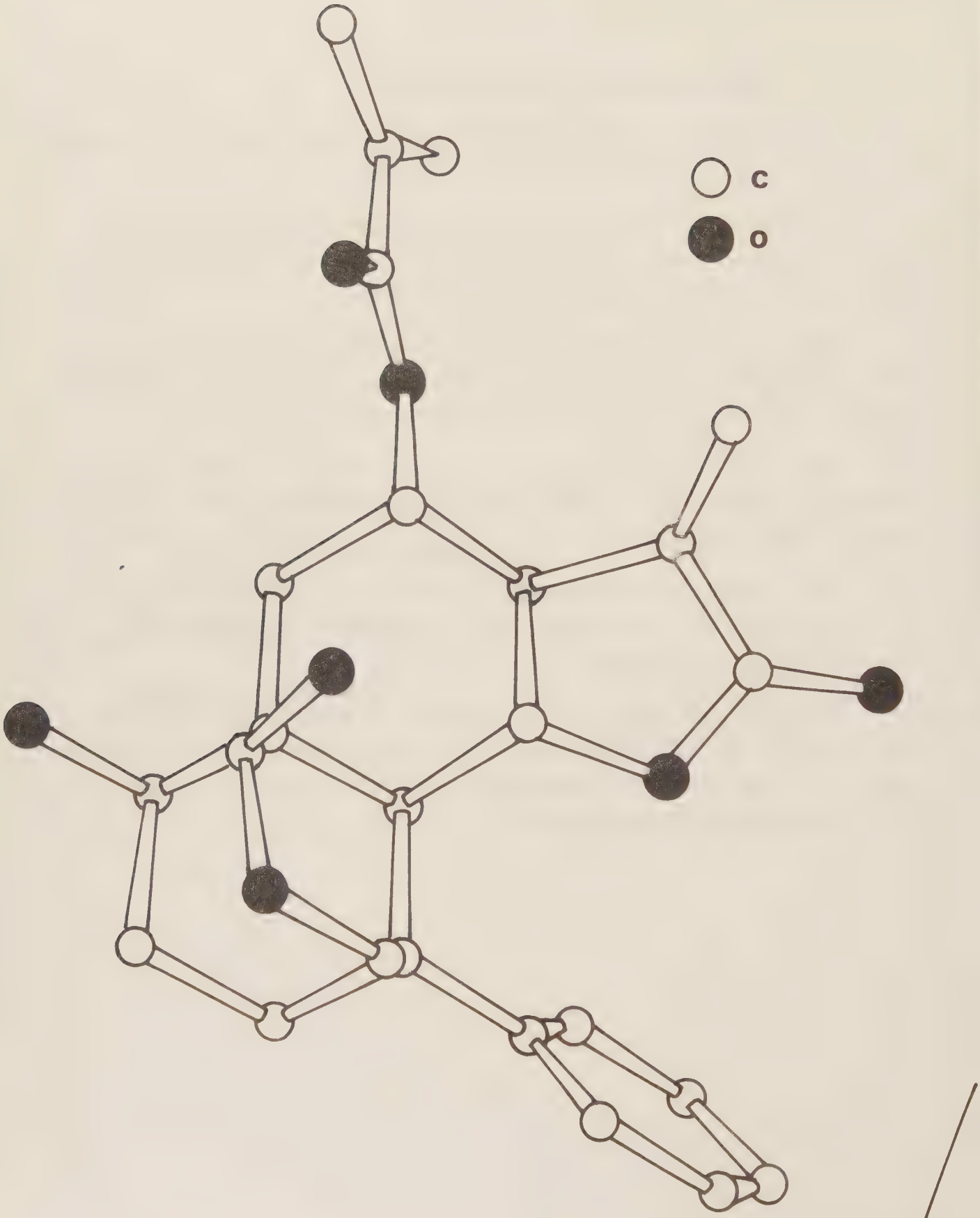


FIGURE VIII : Représentation de la configuration absolue du vernodesmine 9

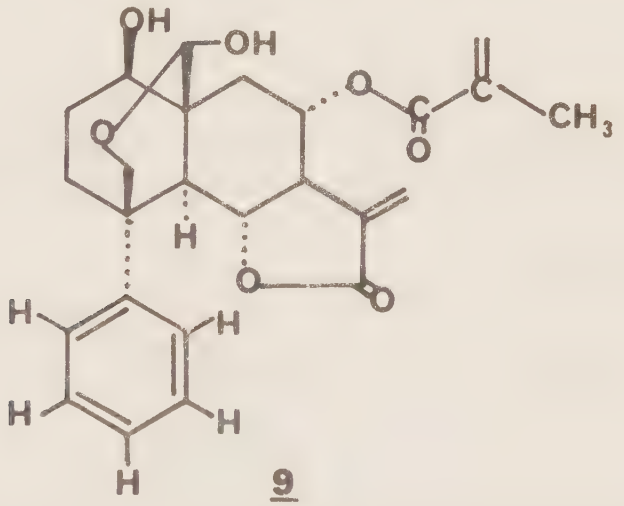
C H A P I T R E I I

STRUCTURE DU VERNODESMINE EUDESMANOLIDE ISOLE DU VERNONIA PECTORALIS BAKER

Le vernodesmine 9, $C_{25}H_{28}O_7$, F=190-194°, $[\alpha]_D$=+27° (c=0,58 ; acétone) est une substance nouvelle cristallisée :

C'est un produit stable à température ambiante ; il est soluble dans l'acétone et le méthanol, difficilement soluble dans le chloroforme.

Sa structure a été élucidée par une analyse cristallographique par les rayons X (A.T. Mc PHAIL).



9

Les diverses données physiques sont en accord avec cette structure :

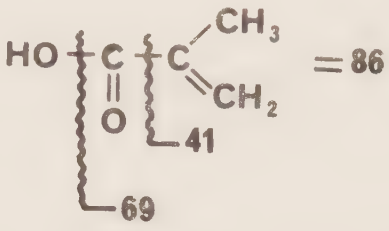
La formule brute du vernodesmine est en accord avec les données de l'analyse élémentaire et de la spectrométrie de masse ($M^{+\cdot}$=440).

Son spectre I.R. présente des bandes à 3560 et 3460cm^{-1} attribuables aux fonctions alcools ; des bandes à 1745 et 1725cm^{-1} témoignent respectivement de la présence de la γ-lac-

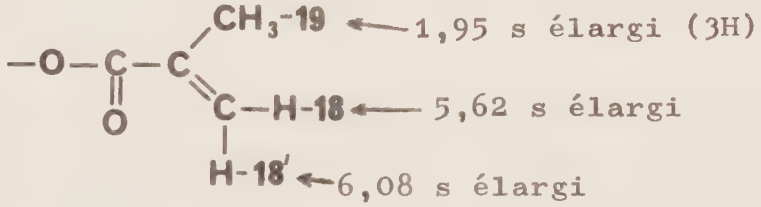
tone α, β insaturée (37) et de l'ester insaturé (38). L'existence simultanée de deux bandes à 750 et 700cm^{-1} est en accord avec la présence d'un groupe phényle dans la molécule (81).

Son spectre U.V. présente des maxima à 210nm (ε=31300), 252nm (ε=500) et 257nm (ε=480) en accord avec la présence des deux carbonyles conjugués (γ-lactone et ester) (40) et du cycle aromatique (82).

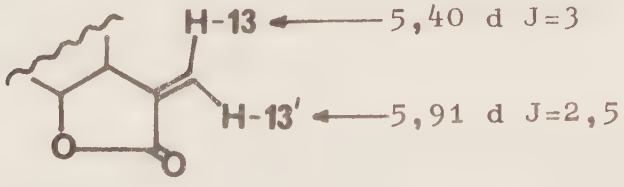
Son spectre de masse montre le pic moléculaire à m/e=444 ($M^{+\cdot}$) et des pics à m/e 422 (M-18), 336 (M-18-86), 318 (M-18-18-86), 69 et 41 qui témoignent de l'existence de l'ester α-méthyle acrylique et des deux fonctions alcool.



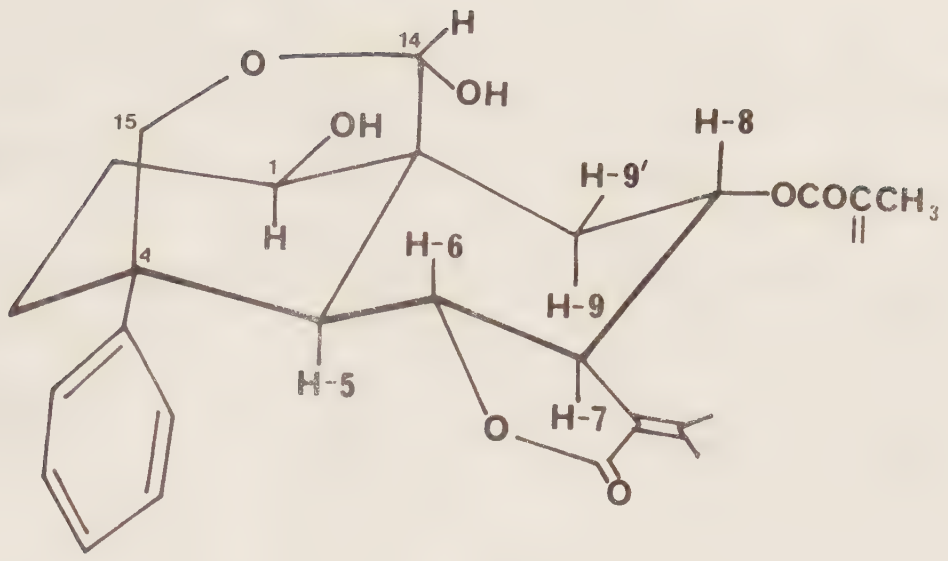
Le spectre de R.M.N. confirme la présence d'un groupement ester de nature α-méthyle acrylique (43) :



et d'une γ-lactone exométhylénique (44) :



A partir de ces derniers signaux un découplage sélectif de proche en proche a été entrepris qui confirme l'enchaînement des protons H-5, H-6, H-7, H-8, H-9 et H-9' (Figure IX et Tableau VI, page 47).



Les valeurs fortes observées pour les constantes de couplage - $J_{5,6}=J_{6,7}=J_{7,8}=J_{8,9}=10Hz$ - sont en accord avec la disposition transdiaxiale des protons H-5, H-6, H-7, H-8 et H-9 (83).

La grande inéquivalence des protons H-9 (dd à 1,39) et H-9' (dd à 2,91) peut s'expliquer par une interaction de type 1-3 diaxiale entre la fonction alcool en 1 et le proton H-9' (84), cette interaction devant provoquer un grand déplacement paramagnétique du proton H-9'.

Les deux protons de type $\underline{H}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH$ résonnent à 5,49 (d J=4 qui donne un s après deutériation (figure IX, page 47) et 3,81 (m). Le signal qui présente le plus important déplacement paramagnétique est attribué au proton H-14 engagé dans un cycle hémiacétalique (85), l'autre au proton de l'alcool secondaire $\underline{H}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH$ sur le carbone 1. La multiplicité des signaux est en accord avec ces attributions.

Les deux protons du groupe $C\underline{H}_2-O$ engagé dans une fonction hémiacétalique présentent la multiplicité caractéristique d'un système AB :

H-15' : d à 4,80 (J=11,5Hz)
H-15 : d à 4,09 (J=11,5Hz) (perturbé sur le spectre par une trace de $C\underline{H}_3OH$.

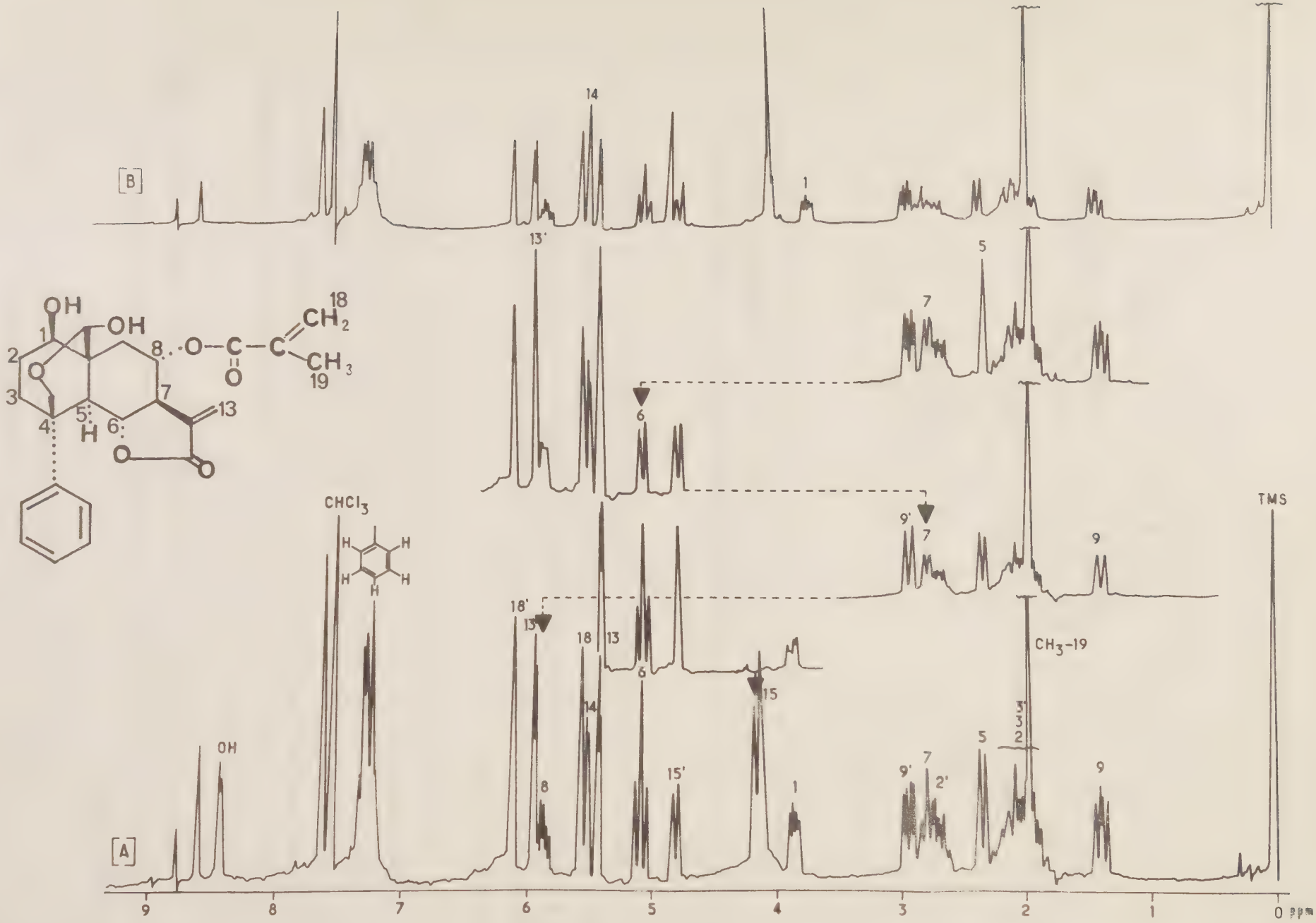
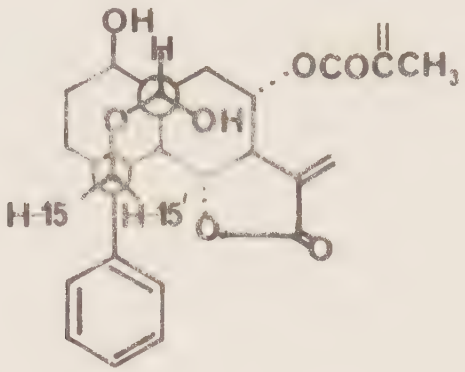


FIGURE IX : Spectres de R.M.N. et de double résonance magnétique nucléaire du vernodesmine 9

[A] : $CDCl_3$ + pyridine d_5, 240MHz. [B] : $CDCl_3$ + pyridine d_5 + D_2O, 240MHz.

La présence de l'hémiacétal confère à la molécule entière une très grande rigidité. L'inéquivalence des protons H-15 et H-15' peut s'expliquer par une disposition différente vis-à-vis de l'OH en 14 (86).



En outre, on observe un massif complexe de 5 protons entre 7,35 et 7,15 en accord avec la présence d'un groupe phényle dans la molécule (87).

Signal irradié	Signal perturbé	Changement observé	Conclusions
H-7 (2,77)	H-13' (5,91) d 3	s	$J_{7,13'} = 3$
	H-13 (5,40) d 2,5	s	$J_{7,13} = 2,5$
	H-8 (5,83) td 10 ; 5,5	m	
	H-6 (5,06) t 10	d 10	$J_{7,6} = 10$
H-6 (5,06)	H-7 (2,77)td 10;3	dd 10 ; 3	$J_{6,7} = 10$
	H-5 (2,32) d 10	s	$J_{5,6} = 10$
H-8 (5,83)	H-9' (2,91) dd 14,5 ; 5,5	d 14,5	$J_{8,9'} = 5,5$
	H-9 (1,39) dd 10 ; 14,5	d 14,5	$J_{8,9} = 10$
	H-7 (2,77)td 10;3	dd 10 ; 3	$J_{8,7} = 10$
H-15 (4,09)	H-15' (4,80) d 11,5	s	$J_{15,15'} = 11,5$

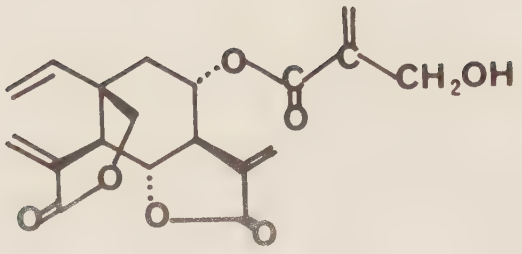
TABLEAU VI

Découplage du vernodesmine 9 ($CDCl_3$ + pyridine d_5, 240MHz).

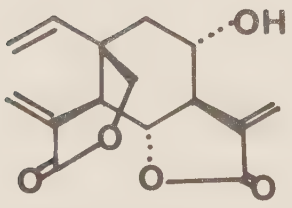
	H-13'	H-13	H-18'	H-18	H-5	H-6	H-7	H-8	CH_3-19	$-CH_2OH$	$-CH_2OAc$	$OCOCH_3$	Autres protons
Pectolide 6 (a)	6,30 dd 3,5;0,8	5,79 dd 3;0,8	6,12 m	5,67 m	4,87 d 9,5	5,60-5,00 m	3,17 tt 8,5;3,5	5,60-5,00 m	1,97 s élargi	4,28 et 3,98 d 12 4,36 et 3,96 d 14	-	-	
Vernopectolide-A 7 (a)	6,32 d 4	5,78 d 3,5	6,15 m	5,68 t 2	4,94 d 10	5,10-5,30 m	3,12 tdd 9;3,5;4	5,10-5,30 m	1,97 s élargi	4,25 et 4,10 d 14	4,60 et 4,43 d 12	2,09 s	
(b)	6,20 m	5,87 d 3,5	6,20 m	5,77 m	5,10 d 10	5,30-5,45 m	3,40 m	5,30-5,45 m	1,97 s élargi	4,13 et 3,91 dd 14;6	4,66 et 4,43 d 12	2,09 s	
Aldéhyde 22 (a)	6,36 dd 3,5; 1	5,82 dd 3; 1	6,14 m	5,67 m	6,03 d 10	5,12 dd 10;7	3,15 m	5,25-5,10 m	1,96 m	-	4,46 et 4,22 d 14	2,08 s	H-CO 10,00 s élargi
Acétyl-vernopectolide-A 23 (a)	6,33 dd 3,5; 0,5	5,77 dd 3; 0,5	6,16 m	5,68 t 2	5,00-5,45 m	5,00-5,45 m	3,15 tt élargi 3;3,5;8	5,00-5,45 m	1,96 m	-	4,62 s élargi 4,68 et 4,37 d 13	2,10 s 2,14 s	
Dihydroacétyl-vernopectolide-A 24 (a)	-	-	6,12 m	5,67 t 1,5	5,60-4,90 m	5,60-4,90 m	-	5,60-4,90 m	1,96 m	-	4,76 s élargi 4,37 et 3,82 d 13	2,12 s 2,14 s	CH_3-13 1,36 d 6,5
Vernopectolide-B 8 (c)	6,23 d 3,5	5,75 d 3	6,32 m	5,75 m	5,18 d 10,5	4,93 dd 10,5;9	2,94 m	5,26 m	2,03 s élargi	4,32 s élargi	-	-	CHO 9,58 d 1 H-1 6,60 td 7;1
Vernodesmine 9 (d)	5,91 d 3	5,40 d 2,5	6,08 s élargi	5,62 s élargi	2,32 d 10	5,06 t 10	2,77 td 10;3	5,83 td 10;5,5	1,95 s élargi	-	-	-	C_6H_5- (5H) 7,15-7,35 m
(e)	5,98 d 3	5,50 d 2,5	6,20 s élargi	5,92 s élargi	2,62 d sous DMSO	4,92 t 10	3,07 td 10;3	5,65 m	2,02 s élargi	-	-	-	C_6H_5- (5H) 7,25-7,50 m

(a) 60MHz $CDCl_3$
(b) 240MHz DMSO d_6
(c) 240MHz $CDCl_3$
(d) 240MHz $CDCl_3$ + pyridine d_5
(e) 240MHz DMSO d_6

TABLEAU VII : Déplacements chimiques en R.M.N. ^1H



Vernodaline 10



Vernolépine 11

C H A P I T R E I I I

ETUDE DE DEUX ELEMANOLIDES ISOLES DE VERNONIA GUINEENSIS BENTH : LE VERNODALINE 10 ET LE VERNOLEPINE 11

L'extrait chloroformique du Vernonia guineensis Benth livre deux substances :

. Le vernodaline 10, $C_{19}H_{20}O_7$, amorphe, $[\alpha]_D$=+124° (c=1 ; chloroforme), abondant (rendement=0,48%) qui se dégrade rapidement à température ambiante,

. et le vernolépine 11, $C_{15}H_{16}O_5$, F=182-184°, $[\alpha]_D$=+77° (c=0,49 ; acétone) cristallisé mais présent en faible quantité (rendement=0,05%).

Un examen de leurs caractéristiques physiques respectives met immédiatement en évidence leurs grandes analogies structurales (Tableaux VIII et IX, page 51).

Nous avons donc entrepris l'étude de structure de la substance la plus abondante.

Au cours de ce travail, les structures ont été publiées par S.M. KUPCHAN et coll. : ces auteurs ont isolé le vernolépine 11 à partir du Vernonia hymenolepsis A Rich (88)(89)(90) et le vernodaline 10 à partir du Vernonia amygdalina Del (91) sur la base d'une prospection systématique des produits responsables, de l'activité antitumorale de certaines plantes.

Ils ont élucidé la structure du vernolépine 11 principalement par une étude cristallographique de son dérivé parabromobenzensulfonylé 25 et celle du vernodaline 10 par corré-

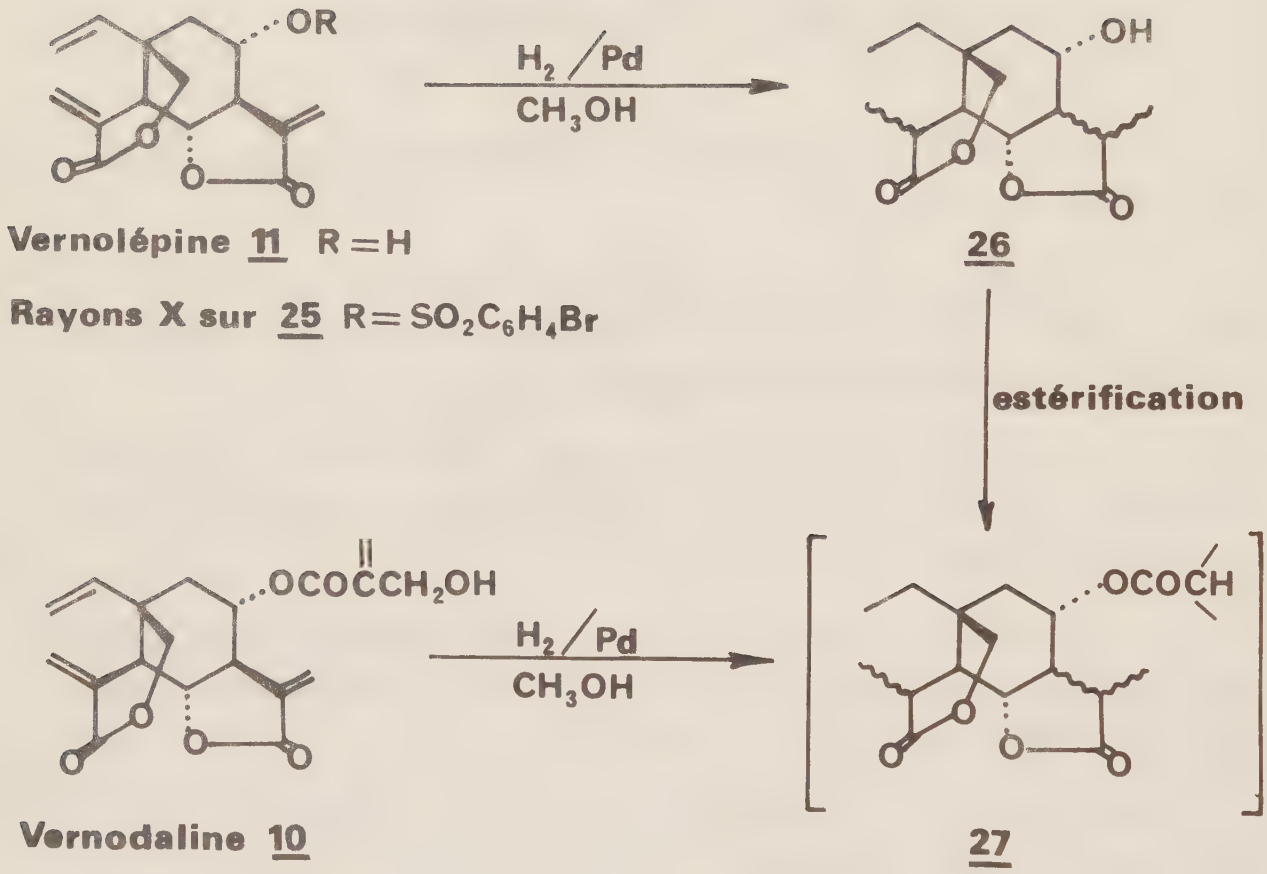


FIGURE X : Corrélation chimique entre le vernolépine 11 et le vernodaline 10.

lation chimique avec le vernolépine (la figure page ci-contre rend compte de cette étude).

De ce fait, seul notre apport personnel sera brièvement détaillé ici.

A - Action du $NaBH_4$ sur le vernodaline,
B - Hydrogénation du vernodaline,
C - Acétylation du vernolépine,
D - Remarques sur les spectres de masse et de R.M.N. du vernodaline et du vernolépine.

Nous remercions le Dr KUPCHAN pour le spectre de R.M.N. du vernodaline et pour un échantillon de vernolépine.

TABLEAU VIII

Caractéristiques physiques et données spectrales du vernodaline 10 et du vernolépine 11

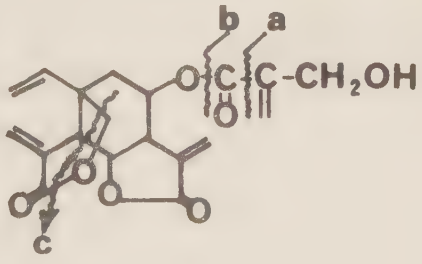
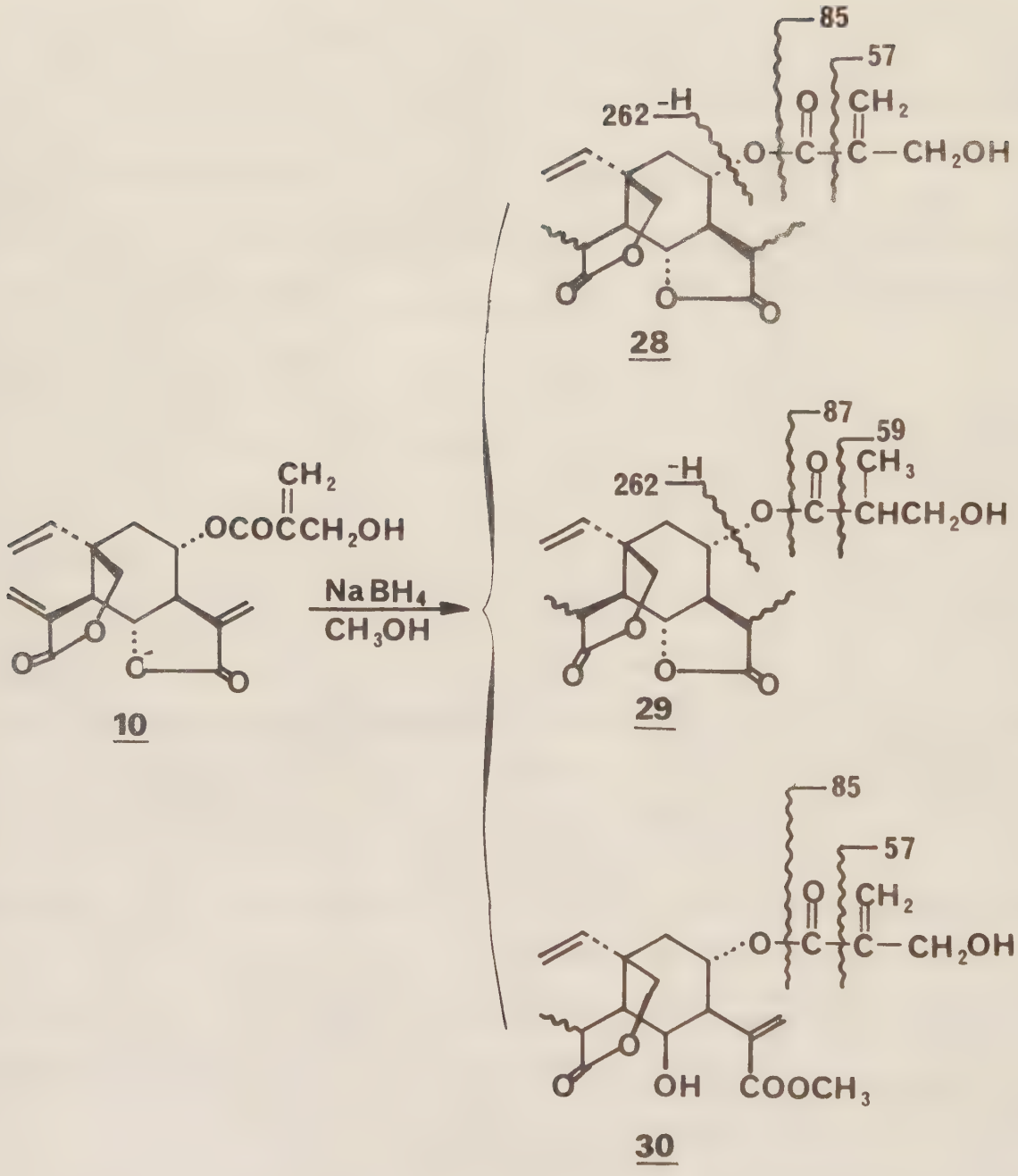
Vernodaline 10	Vernolépine 11
$C_{19}H_{20}O_7$, amorphe $[\alpha]_D$=124° (c=1;chloroforme)	$C_{15}H_{16}O_5$, F=182-184° $[\alpha]_D$=77° (c=0,49;acétone)
U.V. : 212nm (ε=21300)	212nm (ε=18100)
I.R. : 3450cm^{-1} (OH) 1780 (>C=O γ-lactone) 1725 (>C=O δ-lactone et ester) 1630 (>C=C<)	3600, 3450 (OH) 1775 (>C=O γ-lactone) 1725 (>C=O δ-lactone) (92) 1625 (>C=C<)
D.C. : λmax 262 ; $\Delta\varepsilon$=-0,14 λmax 215 ; $\Delta\varepsilon$=+5,40	λmax 262 ; $\Delta\varepsilon$=-0,12 λmax 215 ; $\Delta\varepsilon$=+3,86
Masse  m/e : 360 $M^{+\cdot}$ 276 $M^{+\cdot}$-84 (rupture selon b) 258 $M^{+\cdot}$-84-18 (H_2O) 246 $M^{+\cdot}$-84-30 (rupture selon c) 228 $M^{+\cdot}$-84-30-18 85 rupture selon b 57 rupture selon a	m/e = 276 $M^{+\cdot}$ 258 $M^{+\cdot}$-18 (H_2O) 246 $M^{+\cdot}$-30 (rupture selon c) 228 $M^{+\cdot}$-30-18

TABLEAU IX

Caractérisation par R.M.N. du vernodaline 10 et du vernolépine 11 ($CDCl_3$, 60MHz)

Protons	Vernodaline 10	Vernolépine 11
$=CH_2$ (δ-lactone) H-3'	6,74 s élargi (couplage gem. et couplage allyl. avec H-5	6,75 s élargi (couplage gem. et couplage allyl. avec H-5
H-3	5,97 s élargi	5,90 s élargi
$=CH_2$ (γ-lactone) H-13'	6,22 d $J_{13',7}=3$	6,20 dd $J_{13',7}=3$ et $J_{13',13}<1$
H-13	5,67 d $J_{13,7}=3$	6,00 dd $J_{13,7}=3$ et $J_{13,13'}<1$
$=CH_2$ (ester) H-18'	6,31 m	
H-18	5,97 m	
H-1 ; H-2 ; H-2'	5,78 (1H) $J_{1,2}=10$ $J_{1,2'}=18$	5,76 (1H) $J_{1,2}=10$ $J_{1,2'}=18$
	5,32 (2H) $J_{2,2'}\simeq 0$	5,30 (2H) $J_{2,2'}\simeq 0$
H-9_{ax} ; H-9_{eq} ; H-8	1,66 dd J=10 et 14,5	1,64 dd J=10 et 14,5
	2,28 dd J= 5 et 14,5	2,02 dd J= 5 et 14,5
	5,20 m (confondu avec H-2 et H-2')	4,40 m
$-CH_2O-$ H-14'	4,59 d J=11,5	4,46 d J=12
H-14	4,00 d J=11,5	3,84 d J=12
H-5	3,05 d élargi J=1	2,97 d élargi J=11 et <1
H-6	4,40 m (recouvert par H-14' et CH_2OH)	3,75 m
H-7	3,00 tt $J_{7,13}\simeq J_{7,13'}=3$ $J_{7,8}\simeq J_{7,6}=11$	2,68 tt $J_{7,13}=J_{7,13'}=3$ $J_{7,8}\simeq J_{7,6}\simeq 10,5$
CH_2OH	4,37 s élargi	
OH	2,40 échangeable avec D_2O	2,50 échangeable avec D_2O


85
57
262
-H
O
CH2
O
C
C
CH2OH
28
87
59
CH3
CHCH2OH
29
CH2
OCOCCH2OH
NaBH4
CH3OH
10
OH
COOCH3
30

A - ACTION DU $NaBH_4$ SUR LE VERNODALINE 10

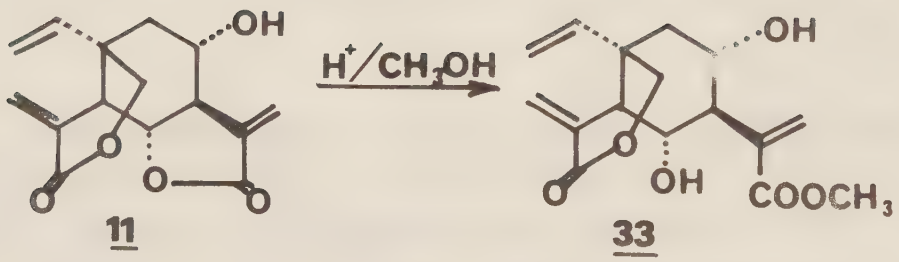
L'action du borohydrure de sodium sur le vernodaline 10 effectuée en vue de la réduction du méthylène exocyclique des lactones (susceptible de conduire à un dérivé plus stable et cristallisé), fournit trois produits 28, 29 et 30.

. Le dérivé 28 (rendement=53%), $C_{19}H_{24}O_7$, amorphe, $[\alpha]_D$=+79° (c=1,19 ; chloroforme) est, comme le prouve son spectre de masse, un tétrahydroverdaline ($M^{+\cdot}$=364) dont l'ester est inchangé - pics à m/e=262, 85 et 57 (voir figure page ci-contre). Le spectre de R.M.N. montre la présence de deux méthyles secondaires - d (3H) à 1,26 (J=7Hz) et d (3H) à 1,43 (J=7Hz) - et la disparition des protons oléfiniques des deux lactones insaturées.

. Le dérivé 29 (rendement=6%), $C_{19}H_{26}O_7$, amorphe, $[\alpha]_D$=+72° (c=0,55 ; chloroforme) est un hexahydrovernodaline ($M^{+\cdot}$=366). C'est le dérivé précédent 28 dont l'ester α-hydroxy-méthylène acrylique a été réduit - pics à m/e=279 (M-87), 262 (M-104), 87 et 59. Son spectre de R.M.N. montre la présence d'un méthyle supplémentaire à 1,20 - d (3H) J=7Hz -

. Le dérivé 30 (rendement=20%), $C_{20}H_{26}O_8$, F=110-113°, $[\alpha]_D$=+55° (c=0,51 ; chloroforme) suppose l'addition d'une molécule de méthanol et la réduction d'une double liaison conjuguée à une cétone ou à un ester ($M^{+\cdot}$=394). Le spectre de R.M.N. confirme ces additions - $OC\underline{H}_3$ (3H) s à 3,78 (93)(94) et $C\underline{H}_3$ - (3H) d à 1,41 (J=7Hz) avec disparition des protons oléfiniques de la δ-lactone.

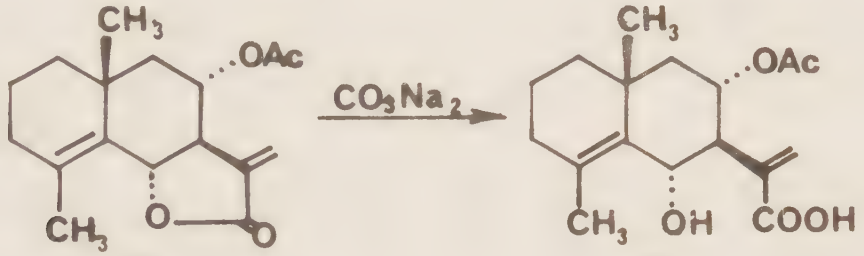
Le spectre infrarouge montre que c'est la γ-lactone exo-méthylénique qui est transestérifiée par le méthanol : très large bande à 1730 et absence de la bande habituelle de la γ-lactone α, β insaturée entre 1780 et 1760cm^{-1}.



11 33

Comme nous l'avons déjà exposé dans le chapitre I, page 21, l'addition du borohydrure de sodium selon un mode 1-4 sur les esters α, β insaturés, justifie de l'obtention des dérivés 28 et 29.

Le dérivé 30 est inhabituel pour ce type de réaction*, dans notre cas l'ouverture de la γ-lactone pourrait être imputée à la tension de ce cycle lorsqu'il est fusionné sur un cycle à 6 chaînons (95). Ainsi, dans des conditions basiques très douces (carbonate de sodium), la γ-lactone du α-cyclo-epitulipinolide 21 est facilement ouverte alors que la fonction acétate reste intacte (93).

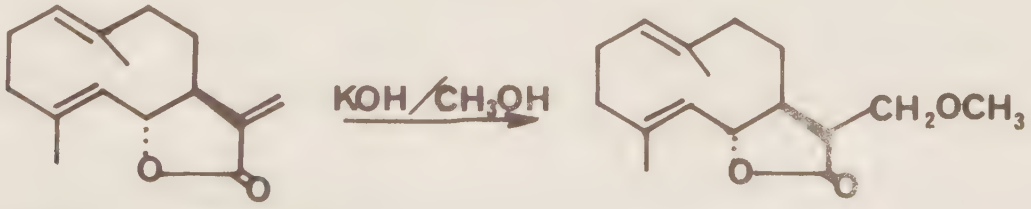


31 32

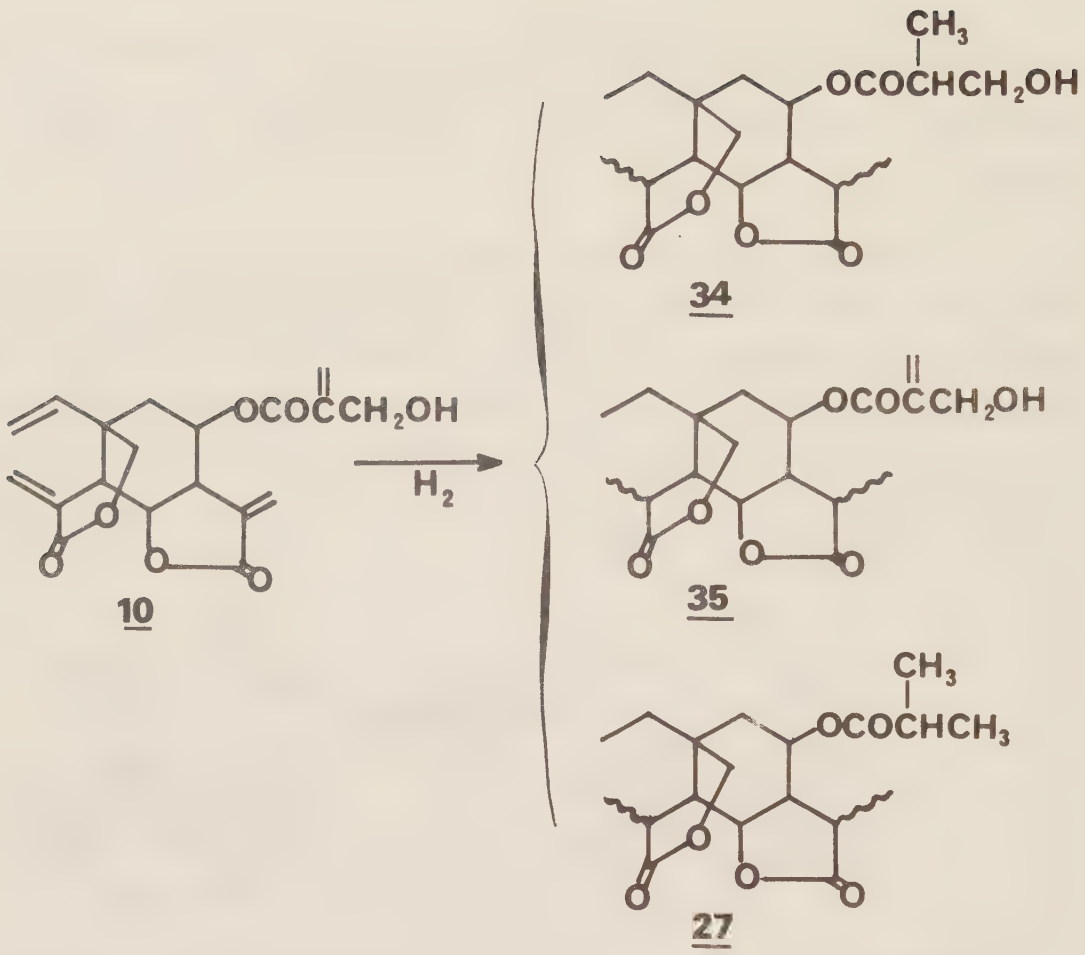
KUPCHAN et coll. observent l'ouverture aisée de la γ-lactone mais en milieu acide, notamment lors des chromatographies qui emploient le méthanol, Ces auteurs attribuent aussi cette réactivité à la tension du cycle lactonique dans ce type de structure (89) (figure ci-contre).

---

* En milieu basique la γ-lactone ne s'ouvre pas et le méthanol s'additionne sur le méthylène exocyclique par une réaction de MICHAEL (96).



Costunolide (97)



Conditions de l'hydrogénation	34	35	27
pendant 15mn en présence de Pd/C dans l'acétate d'éthyle	47%	33%	5%
pendant 1h en présence de PtO_2 dans l'acide acétique	12%	0	60%

TABLEAU X

Hydrogénation du vernodaline 10

B - HYDROGENATION DU VERNODALINE 10

Nous avons réalisé deux hydrogénations différemment catalysées. Elles conduisent aux mélanges des différents stéréoisomères des produits 34, 35 et 27.

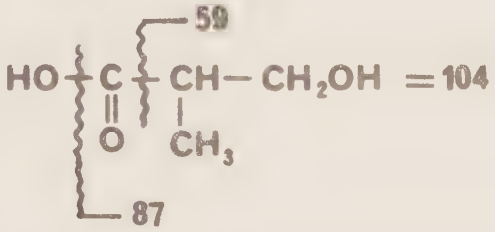
Les méthylènes exocycliques et le groupement vinylique sont facilement saturés. Les dérivés obtenus ne diffèrent que par leurs restes esters. L'hydrogénation catalysée avec le palladium conduit surtout à l'ester saturé, alors que le platine dans l'acide acétique favorise l'hydrogénolyse de l'alcool allylique (Tableau X, page ci-contre).

Le dérivé 34 est un mélange de plusieurs stéréoisomères : les deux principaux isomères 34a et 34b ont pu être isolés et caractérisés :

34a : $C_{19}H_{28}O_7$, F=197-199°, $[\alpha]_D$=+12° (c=0,5 ; acétone),

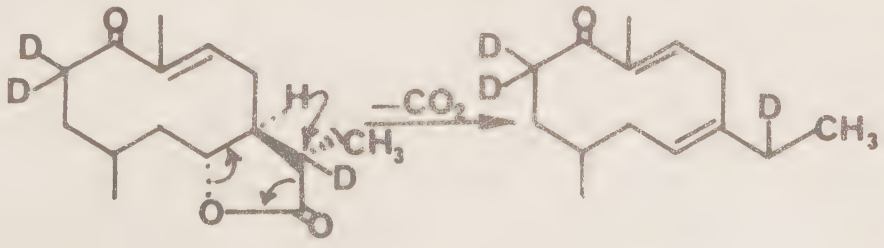
34b : $C_{19}H_{28}O_7$, F=163-165°, $[\alpha]_D$=+87° (c=1 ; acétone).

Ce sont, comme le prouvent leurs spectres de masse, des octahydrovernodalines ($M^{+\cdot}$=368) ; les ions à m/e=281 (M-104-44*) 87 et 59 montrent que l'ester α-hydroxyméthylène acrylique est saturé.



---

* 44 représente la perte de CD_2. Un mécanisme pour une telle fragmentation a été signalé (98)(99).



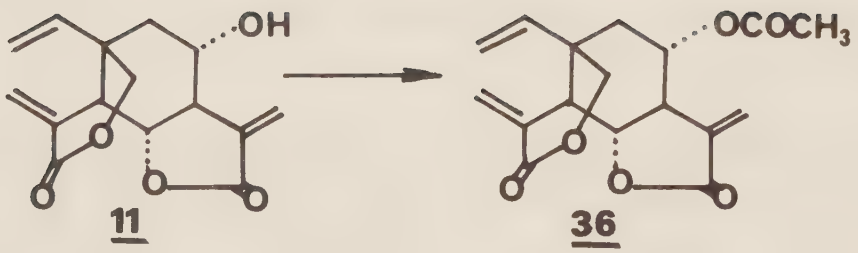
Leurs spectres de R.M.N. présentent trois méthyles secondaires :

. 34a : d (3H) à 1,18 (J=7), 1,28 (J=7) et 1,40 (J=7),

. 34b : d (3H) à 1,18 (J=7), 1,24 (J=7) et 1,34 (J=7), qui traduisent la saturation des doubles liaisons de l'ester et des deux lactones ; ils montrent aussi un triplet (3H) à 0,92ppm (J=7) caractéristique d'un groupement éthyle.

. Le dérivé 35 : $C_{19}H_{26}O_7$, F=140-145°, est un mélange de stéréoisomère, même après cristallisation. C'est un hexahydro-vernodaline ($M^{+\cdot}$=366) dont l'ester α-hydroxyméthylène acrylique est inchangé. Son spectre de R.M.N. montre la saturation des deux lactones exométhyléniques - d (3H) à 1,42 (J=7) et à 1,27ppm (J=7) et du groupe vinyl en un groupe éthyle - t (3H) à 0,95ppm (J=7).

. Le dérivé 27 : $C_{19}H_{28}O_6$, F=170-174°, $[\alpha]_D$=+49° (c=1 ; chloroforme) ne diffère des produits 34 et 35 que par la nature du reste ester. Le spectre de masse montre l'hydrogénolyse de celui-ci en ester isobutyrique - $M^{+\cdot}$=352 et ions à m/e=264, 71 et 43 -. Le spectre de R.M.N. confirme la présence d'un groupe isopropyle - d (6H) à 1,18 (J=7) et montre l'identité du reste de la molécule avec 34 et 35 - d (3H) à 1,26 (J=7), 1,40 (J=7) et t (3H) à 0,92ppm (J=7) -.



11 36

C - ACETYLATION DU VERNOLEPINE 11

Les conditions habituelles qui consistent à abandonner pendant la nuit le produit dissous dans la pyridine avec un volume égal d'anhydride acétique conduisent à un mélange complexe sur couche mince.

Des conditions plus douces mises au point par KUPCHAN (89) (pyridine avec une quantité stœchiométrique d'anhydride acétique et pendant 6h) conduisent presque exclusivement au monoacétate 36 : $C_{17}H_{18}O_6$, F=145-147°, $[\alpha]_D$=+130° (c=0,40 ; chloroforme).

I.R. : bande supplémentaire à 1735 et 1240cm^{-1}, absence de bande OH.

Spectre de masse : pas de pic moléculaire mais un pic à m/e=288 (M-30) et des pics à m/e=276 (M-42), 258 (M-60), 246 (M-42-30) et 228 (M-60-30) qui témoignent de la présence d'une fonction acétate.

R.M.N. : le spectre est très analogue à celui du produit de départ. Les seules différences concernent la présence d'un signal dû au méthyle d'un acétyle (3H) s à 2,12ppm, et le déplacement paramagnétique à 5,05 du proton H-8 initialement situé entre 3,75 et 4,40ppm.

Le déplacement diamagnétique de H-13, 6,02ppm pour le vernolépine 1 et 5,62 pour son acétate, et la disparition du faible couplage géminal $J_{13,13'}$ peuvent être aussi remarqués : ces modifications sont en accord avec les remarques de H. YOSHIOKA et T.J. MABRY sur les γ-lactones exométhyléniques, H-6β et H-7α qui ont une fonction hydroxyle H-8β (100).

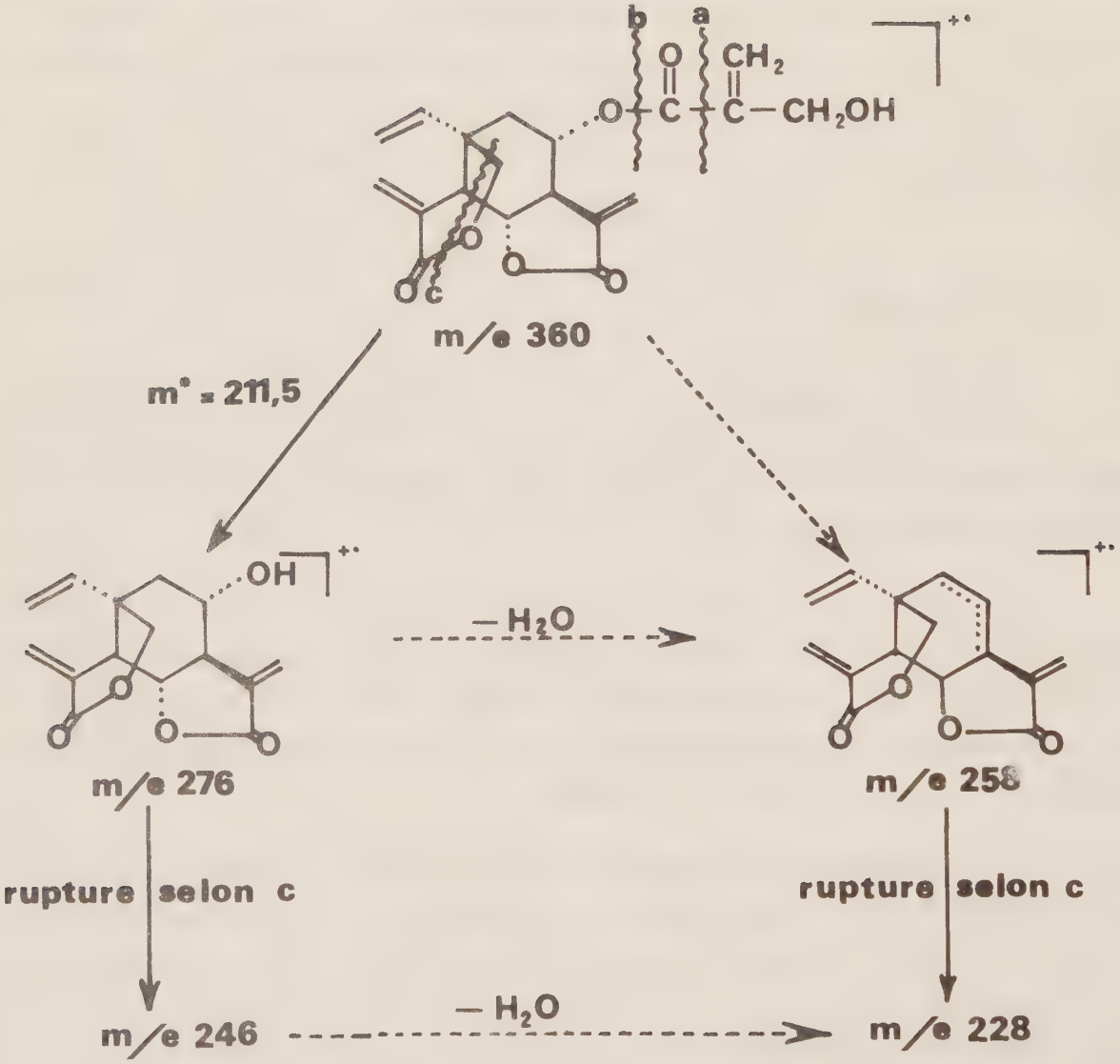
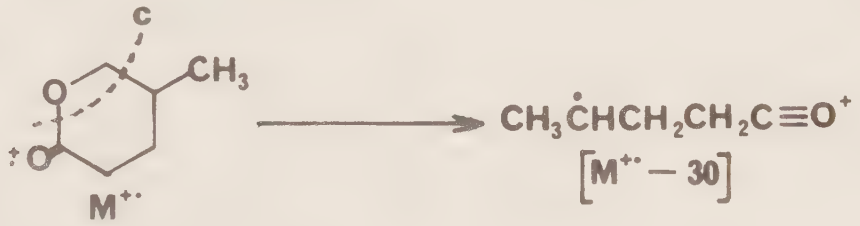


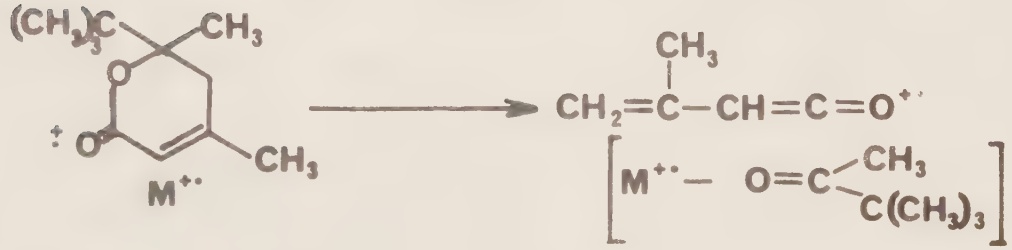
FIGURE XI : Fragmentation du vernodaline 10

D - REMARQUES SUR LES SPECTRES DE MASSE ET DE R.M.N. DU VERNODALINE 10 ET DU VERNOLEPINE 11

1) . Spectres de masse :

Outre les pics dont la présence témoigne de l'existence d'une fonction alcool (perte de H_2O) ou d'une fonction ester (rupture selon a et b), le vernodaline, le vernolépine et tous leurs dérivés montrent la perte de 30 unités de masse, soit à partir du pic moléculaire, soit à partir des pics obtenus après fragmentation de l'ester. Cette coupure caractéristique des δ-lactones saturées et insaturées est connue (101)(102) (rupture selon c) : elle témoigne de la perte de formaldéhyde, ou d'un aldéhyde, ou d'une cétone, suivant les ramifications sur le carbone en α de l'oxygène dans le cycle lactonique.





L'interprétation simple de la formation des principaux ions présents dans le spectre du vernodaline 10 est représenté par la figure XI, page ci-contre.

2) . Spectre de R.M.N. du vernodaline 10

Tous les protons du vernodaline 10 ont été assignés sur le spectre enregistré à 60MHz (Figure XII, page 58 et Tableau IX, page 51).

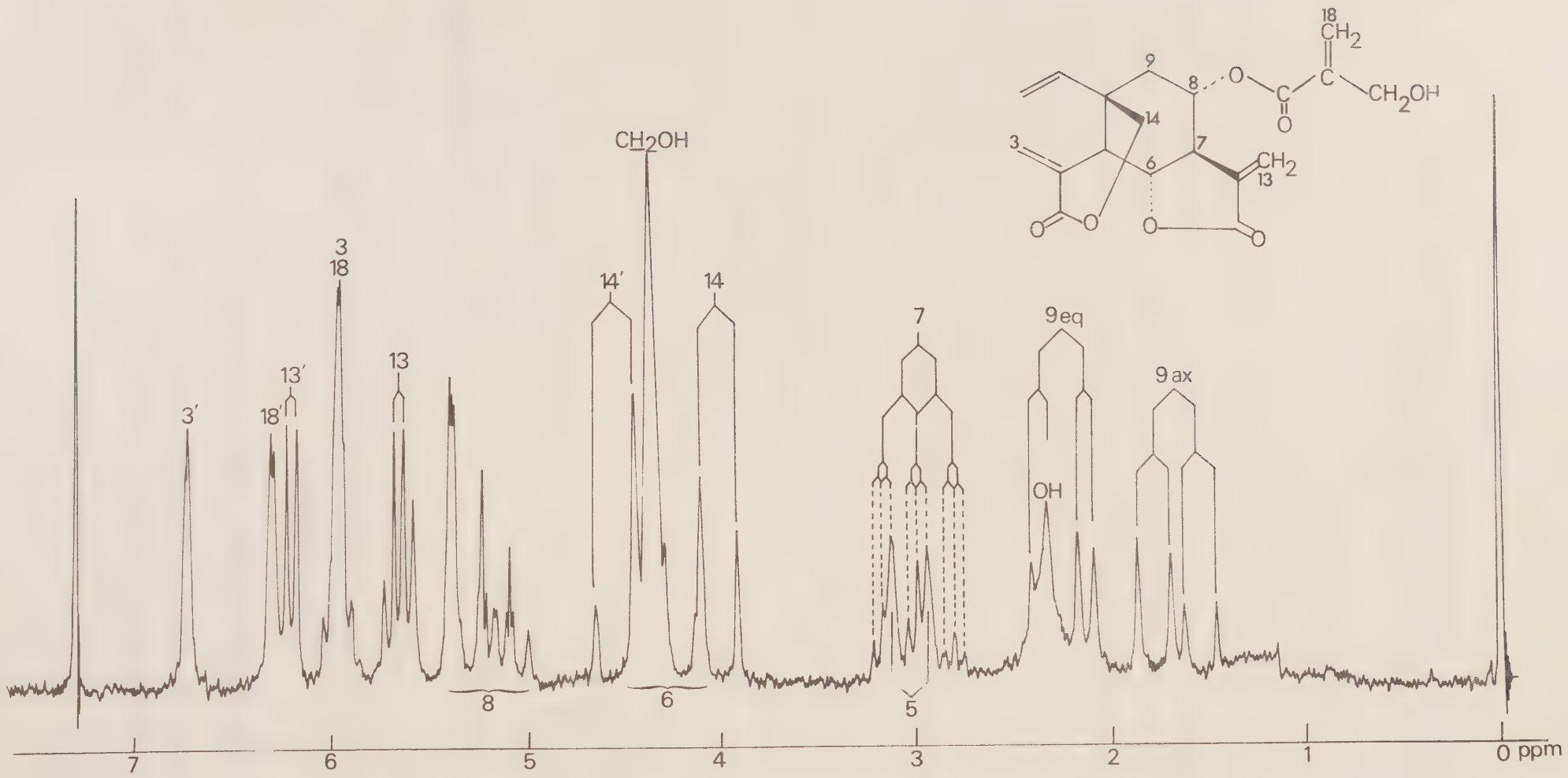
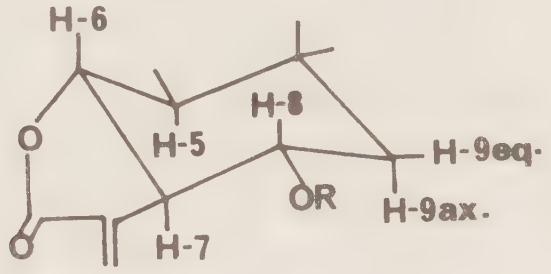


FIGURE XII : Spectre de R.M.N. du vernodaline 10 ($CDCl_3$, 60MHz)

Dans le cas des spectres dits du 1er ordre, les systèmes de protons faiblement couplés sont synonymes de raies bien individualisées correspondant chacune à un noyau donné avec peu ou pas de mélange entre les différents protons. On obtient les déplacements chimiques δ et les constantes de couplage J en mesurant simplement ces distances sur le spctre.

Ainsi, la partie champs forts du spectre de R.M.N. du vernodaline intègre pour quatre protons (H-5, H-7, $H\text{-}9_{ax}$ et $H\text{-}9_{eq}$) dont la multiplicité est facilement déduite par une telle analyse (sous spectres AB de système ABX), les valeurs fortes observées pour les constantes de couplage $J_{5,6}$, $J_{6,7}$ et $J_{8,9ax}$ étant en faveur d'une disposition mutuelle trans diaxiale de ces protons entre eux (83).



Lorsque le système comporte plus de deux groupes de noyaux fortement couplés, les fréquences et intensités des raies ne s'expriment plus directement en fonction des δ et J. On peut alors recourir à l'analyse par ordinateur. Cependant celle-ci exige une certaine connaissance préalable du système. Il s'agit de proposer un ensemble de paramètres δ et J suffisamment voisins des paramètres réels pour que le spectre calculé reproduise correctement l'allure du spectre expérimental. On refait le calcul en modifiant les valeurs choisies pour δ et J jusqu'à ce que le spectre théorique coïncide le plus exactement avec le spectre réel.

Constantes de couplage

1,2 = 10,0

1,3 = 18,0

2,3 = 0

LINE	FREQUENCY	INTENSITY
13	306.44	0.612
5	307.66	0.227
14	313.42	0.299
4	314.64	1.123
12	321.63	0.377
2	322.86	2.187
9	325.00	2.707
3	326.22	0.458
15	336.64	2.089
11	344.86	1.066
7	355.20	0.474
1	363.42	0.355

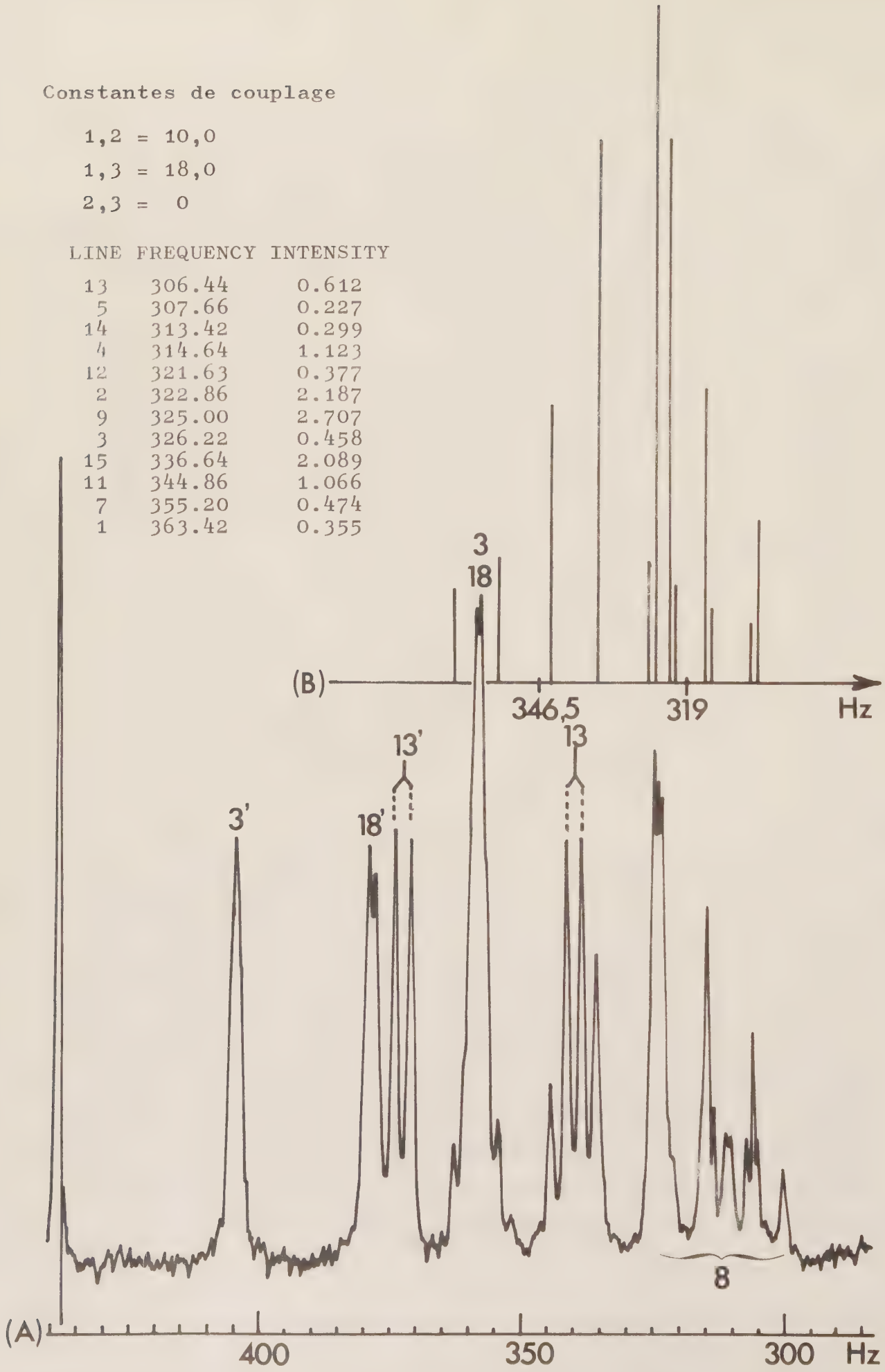
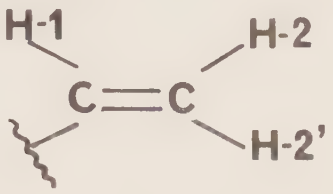


FIGURE XIII : Spectre partiel du vernodaline 10 :
(A) : observé ; (B) : théorique.

Les trois protons du groupement vinylique forment un système complexe de raies qui n'est pas du 1er ordre :



. H-1 est un signal de 4 raies dont le centre de symétrie est à 346,5Hz (5,78ppm).

. H-2 et H-2' ont le même déplacement chimique mais ils sont magnétiquement non équivalents, car leurs constantes de couplage avec H-1 sont différentes. Il forment un multiplet dont le centre de symétrie est à 319Hz (5,32ppm).

Afin de vérifier l'exactitude d'un tel système ABB' (103) et de préciser les constantes de couplage, nous avons simulé le spectre de R.M.N. de ce groupement*.

Les données fournies à l'ordinateur sont les déplacements des deux massifs mesurés sur le spectre et des constantes de couplage dans les limites suivantes (104) :

$$J_{1,2} = 7 - 10Hz$$
$$J_{1,2'} = 16 - 20Hz$$
$$J_{2,2'} = 0 - 2Hz$$

La meilleure identité du spectre théorique et du spectre expérimental (figure page ci-contre) est obtenue avec comme constante de couplage $J_{1,2}$=10Hz, $J_{1,2'}$=18Hz et $J_{2,2'}$=0.

L'interprétation de ces mêmes signaux par une analyse du 1er ordre aurait conduit à $J_{1,2}$=8Hz, $J_{1,2'}$=19Hz et $J_{1,2'}$= 1,2Hz.

---

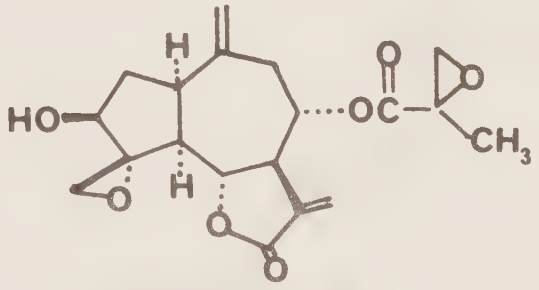
* Programme LAON, partie non itérative du programme LAONCOON II.

Cette étude montre les limites de l'analyse du 1er ordre appliquée au système complexe. Une telle analyse est pourtant souvent rencontrée dans la littérature (105)(106).

C H A P I T R E I V

STRUCTURE DU SUBLUTEOLIDE ; GUAÏANOLIDE ISOLE DU VERNONIA SUBLUTEA SCOTT ELLIOT

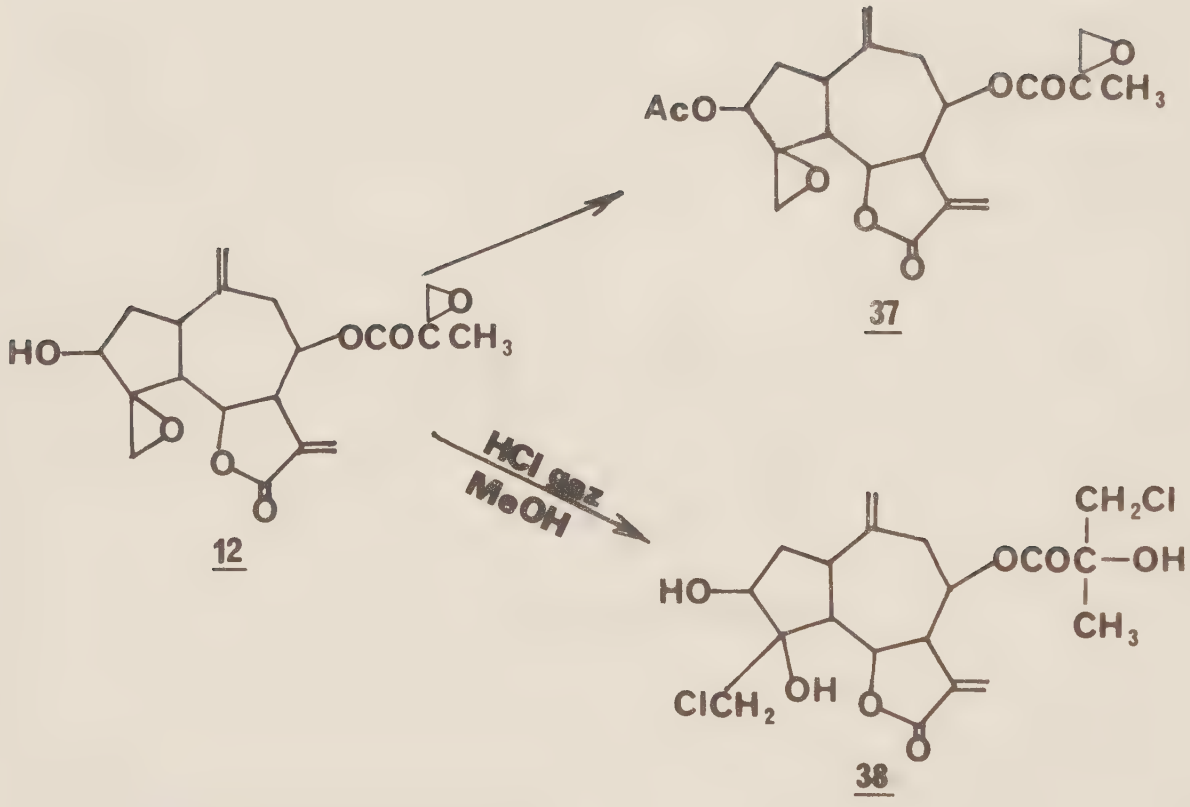
L'extrait chloroformique des feuilles et fleurs du Vernonia sublutea Scott Elliot provenant de Madagascar fournit une substance amorphe - pour la purification de laquelle trois chromatographies successives sont nécessaires - le sublutéolide 12 (107), $C_{19}H_{22}O_7$, $[\alpha]_D$=+54° (c=0,9 ; chloroforme).



Sublutéolide 12

C'est un produit stable à température ambiante, mais qui se dégrade à la chaleur ; il est soluble dans le benzène, le chloroforme et le méthanol.

L'élucidation de sa structure fait l'objet du présent chapitre.


AcO
OCOC CH3
O
37
HO
OCOC CH3
O
12
HCl Sbz
MeOH
CH2Cl
HO
OCOC—OH
CH3
ClCH2
OH
38

1 - ETUDE DES GROUPEMENTS FONCTIONNELS DU SUBLUTEOLIDE ; NATURE DU SQUELETTE

Sa formule brute, $C_{19}H_{22}O_7$, ressort des données de la spectrométrie de masse : impact électronique, m/e = 331 ($M^{+\cdot}$-31) ; ionisation chimique (108), m/e = 363 ($M^{+\cdot}$+1), et de l'étude du spectre de R.M.N. du ^{13}C : 1-CH_3, 6>CH_2, 6-$\overset{|}{C}$-H, +6-$\overset{|}{C}$-.

Son spectre ultraviolet présente un maximum à 213nm (ε=9600) (40) et son spectre infrarouge des bandes à 3600-3540 (OH), 1765 et 1660 (γ-lactone α, β insaturée), 1740 (ester) et 1640cm^{-1} ($\diagdown C{=}C \diagup$) (37).

Son spectre de R.M.N. rend compte du caractère exocyclique de la double liaison conjuguée à la γ-lactone, par les deux doublets habituels H-13 et H-13' présents à 5,72 (J=3Hz) et 6,25 (J=3,5Hz) (44) ; à partir de ces signaux, des expériences de double résonance permettent de repérer successivement H-7 (m à 3,12) et deux protons de type H-$\overset{|}{C}$-O voisins de H-7 et correspondant, l'un à la γ-lactone et l'autre à l'ester (dd à 4,62 et ddd à 5,04) (figure IV et tableau XI , page 68).

A 4,96 et 5,19 on remarque deux singulets élargis dont l'allure et le déplacement sont caractéristiques d'un méthylène exocyclique non conjugué (109).

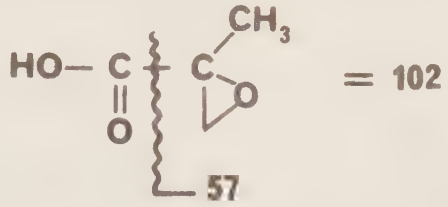
Trois autres groupements peuvent être décomptés :

. une fonction alcool secondaire, mise en évidence par l'obtention d'un monoacétate 37, $C_{21}H_{24}O_8$, amorphe, $[\alpha]_D$=+56° (c=0,66 ; chloroforme) ; $M^{+\cdot}$ 404, dont le spectre infrarouge est dépourvu de bande hydroxyle. Son spectre de R.M.N. présente un multiplet (1H) à 5,03 (signal situé à 4,00 dans le spectre de R.M.N. du sublutéolide 12), et à 2,12 le s (3H) du méthyle de l'acétate.

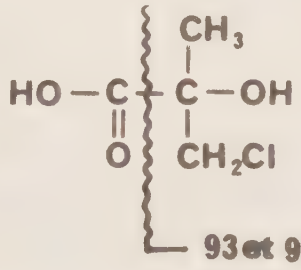
. deux groupements spiroépoxydes mis en évidence sur le spectre de R.M.N. du sublutéolide par deux paires de doublets

centrées à 2,84 et 3,20 (système AB, J=6Hz), 3,08 et 3,32 (système AB, J=4,5Hz) (110) et que confirme l'obtention d'une dichlorhydrine 38 : $C_{19}H_{24}O_7Cl_2$, amorphe, $[\alpha]_D$=+57° (c=0,83 ; chloroforme) ; les deux paires de doublets précités se retrouvent dans le spectre de R.M.N. de ce dérivé à 4,00 et 4,38 (système AB, J=12Hz) et à 3,68 et 3,83 (système AB, J=11Hz) (111).

- quant à la nature du reste ester, elle est déductible de l'examen du spectre de masse du sublutéolide 12 : deux pics à m/e = 260 ($M^{+\cdot}$-102) et à m/e 57 suggèrent une estérification de la molécule par l'acide époxy-isobutyrique.



Le spectre de masse de la dichlorhydrine 38 confirme la structure de cet ester par deux pics* à m/e = 298 et 296 ($M^{+\cdot}$ -$C_4H_7O_3Cl$) et deux pics à m/e = 93 et 91.

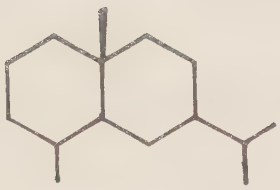


La nature de cet ester de 4 carbones permet d'attribuer au sublutéolide ($C_{19}H_{22}O_7$) un squelette sesquiterpénique et l'ensemble des groupements fonctionnels (γ-lactone α, β insaturée, méthylène exocyclique, ester, alcool et époxyde) suppose un squelette bicyclique.

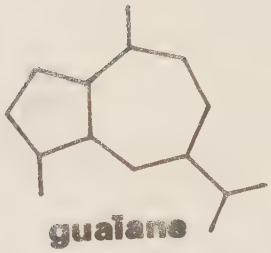
Ce squelette implique l'existence de deux méthyles : ils sont dans le cas du sublutéolide - compte tenu de l'absence des signaux correspondants dans le spectre de R.M.N. et de l'ensemble des données précédentes - fonctionnalisés en époxyde et méthylène exocyclique.

---

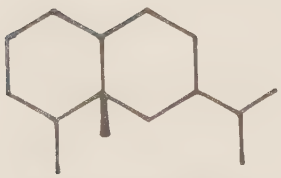
* La présence et l'intensité de ces paires de pics est en accord avec l'abondance isotopique naturelle des ^{35}Cl et ^{37}Cl (112).



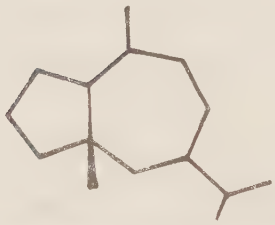
eudesmane



guaïane



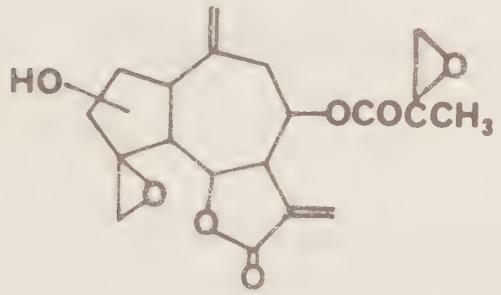
érémophilane



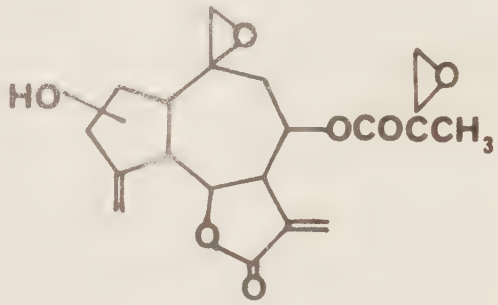
pseudoguaïane

Parmi les quatre squelettes pouvant être envisagés (113) : guaïane, endesmane, éremophilane et pseudoguaïane les trois derniers peuvent être exclus dont un des méthyles, situé à la jonction des cycles est tertiaires. Le sublutéolide est donc un guaïanolide.

Les seules 2 formules A ou B peuvent donc être envisagées pour le sublutéolide ; il reste à localiser sur la molécule la fonction alcool secondaire et à déterminer les positions relatives du méthylène exocyclique et de l'époxyde ainsi que celles de la γ-lactone et de l'ester.



A



B

2 - POSITION RELATIVE DES GROUPEMENTS FONCTIONNELS ET CONFIGURATION DU SUBLUTEOLIDE

1 - Vicinalité de l'alcool secondaire et de l'époxyde

L'acétyl-sublutéolide 37 se transforme lors de sa chromatographie sur colonne de gel de silice en un dérivé plus polaire 39 : $C_{21}H_{26}O_9$, F=122-125°, $[\alpha]_D$=+24° (c=0,5 ; chloroforme) rendement = 78%).

. Le spectre infrarouge de ce dérivé montre à 3550cm^{-1} une bande intense en faveur de la présence d'au moins un alcool dans la molécule.

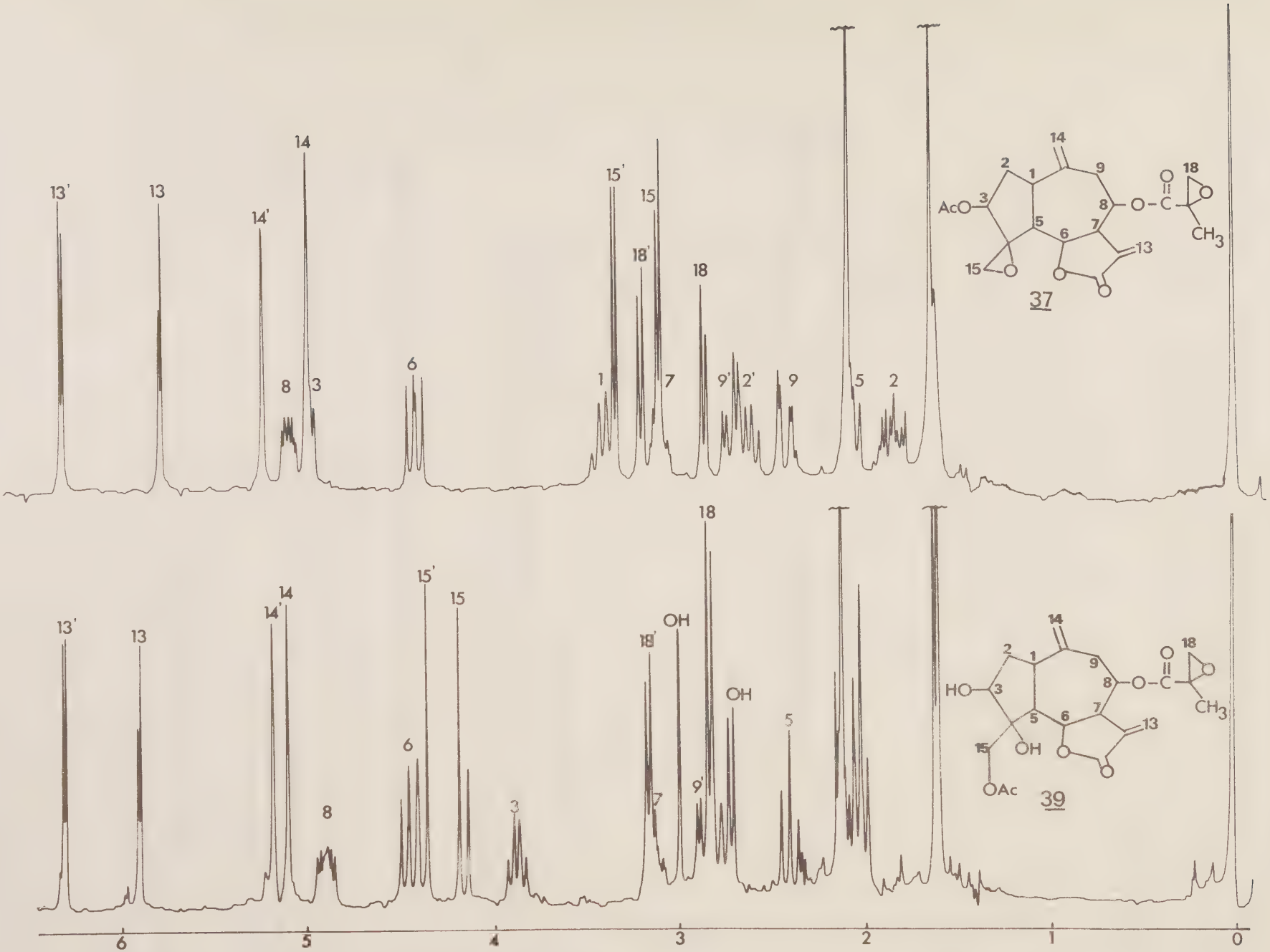


FIGURE XIV : Spectre de R.M.N. de l'acétylsublutéolide 37 et de son dérivé transformé 39 ($CDCl_3$, 240MHz).

. Le spectre de masse montre le pic moléculaire de ce composé à m/e = 422 impliquant la présence d'un oxygène et de deux hydrogènes supplémentaires. La nature inchangée de l'ester est mise en évidence par les pics de fragmentation à 57 et 320 (M-102) ; et trois autres pics fragments à 302 (M-102-18), 260 (M-102-60), 242 (M-102-60-18) sont présents et suggèrent la présence d'un acétate et d'une fonction alcool dans ce produit.

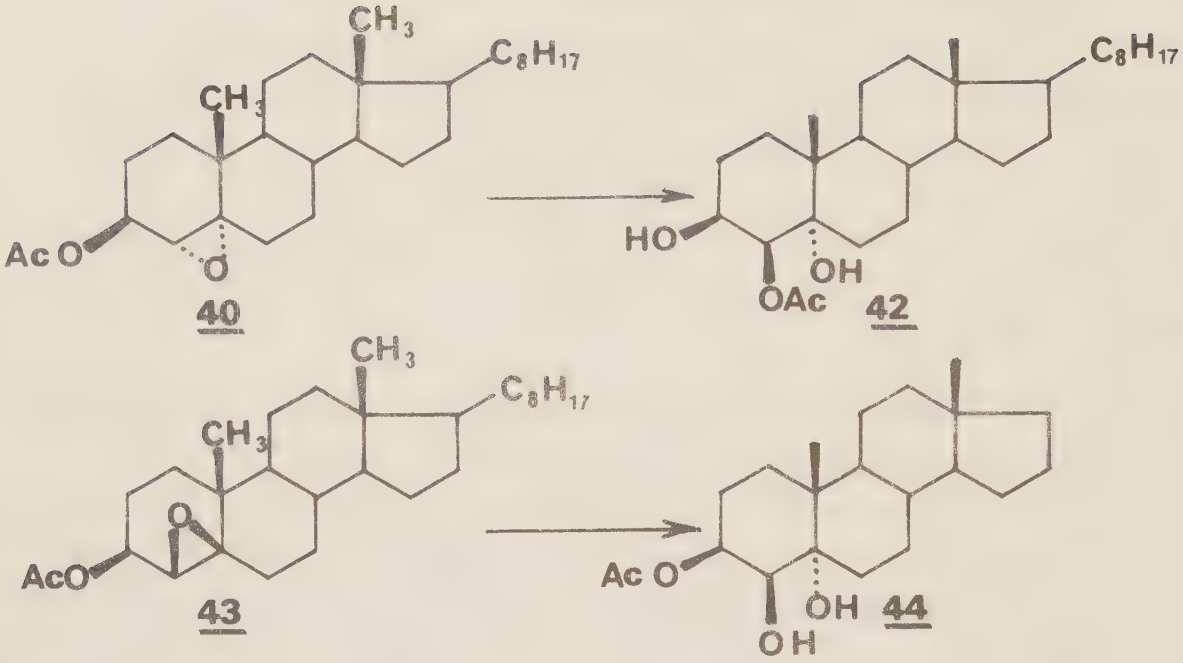
. Ces indications sont précisées par l'étude du spectre de R.M.N. (figure ci-contre) qui confirme par un singulet (3H à 2,17) l'existence d'un groupement acétyl. D'autre part, un important déplacement paramagnétique des signaux d'un des systèmes AB peut être constaté : de 3,08 à 3,32 (J=4,5Hz) dans le spectre du produit originel à 4,35 et 4,13 (J=11Hz) dans celui du nouveau produit, l'ouverture de l'époxyde est donc à envisager.

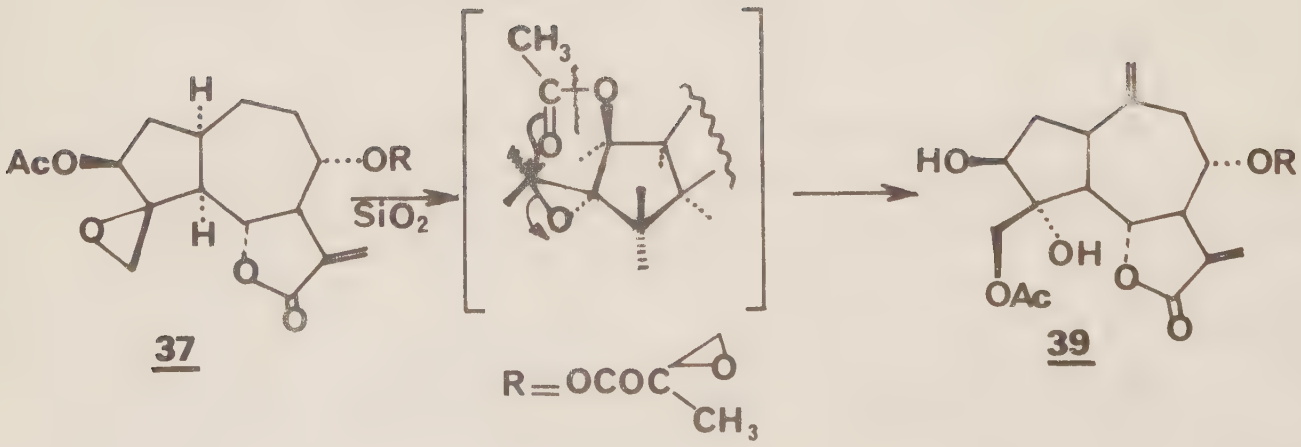
Le proton de type H-C-OAc, présent dans le spectre de l'acétyl-sublutéolide 37 à 5,03, se retrouve à 3,87ppm (ddd, 10 ; 8 ; 7,5) et apparaît après deutériation comme un dd (10 ; 8). Son déplacement est presque le même que le proton de type H-COH dans le spectre du sublutéolide 12 : 4,50 (dd, 7 ; 4,5).

En résumé, un bilan de ces données suppose un CH_2OAc et un alcool secondaire présents dans la nouvelle molécule. Un alcool supplémentaire est aussi à envisager compte tenu d'un singulet visible sur le spectre de R.M.N. à 3ppm (qui disparaît par deutériation).

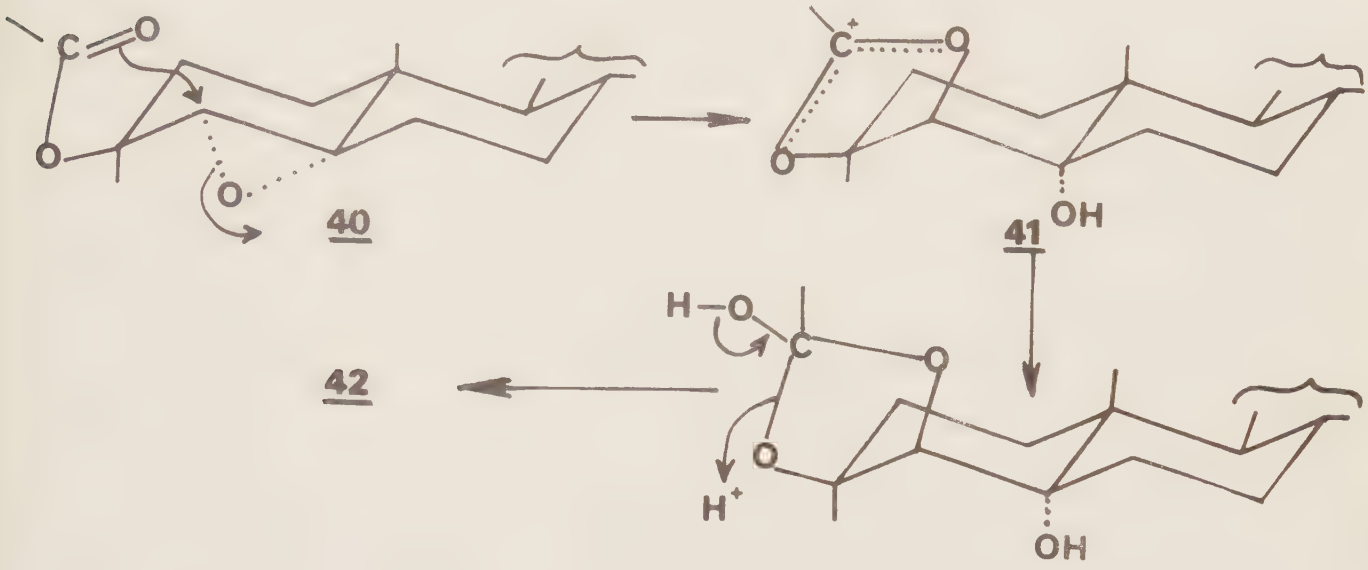
Deux groupements - l'acétate et l'époxyde spiro - semblent donc affectés par un réarrangement catalysé sans doute par l'acidité du gel de silice (114).

Un réarrangement rapporté dans la littérature pouvait justifier de l'obtention de notre produit final 39, l'ouverture des époxydes avec participation d'un groupe acétate


CH3
C8H17
CH3
Ac O
O
40
HO
OH
OAc
42
CH3
C8H17
CH3
O
AcO
43
Ac O
OH
44
OH

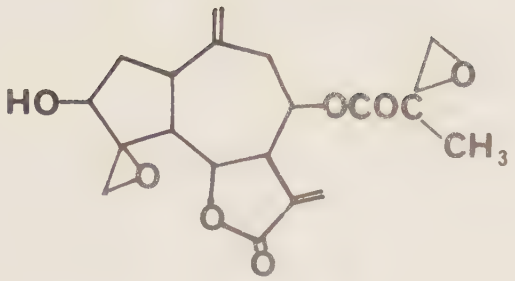

H
AcO
OR
O
H
O
O
37
SiO2
CH3
C
O
O
O
R=OCOC
O
CH3
HO
OR
OH
OAc
O
O
39

voisin étant une réaction connue, notamment utilisée pour l'introduction stéréosélective de substituant en position 4 dans les stéroïdes (115) : il a été montré que l'ouverture acido-catalysée de l'acétoxy-3β époxy-4α, 5α cholestane 40 conduit à l'acétoxy-4β cholestanediol-3β, 5α 42 par l'intermédiaire de l'ion cyclique 41 (116).

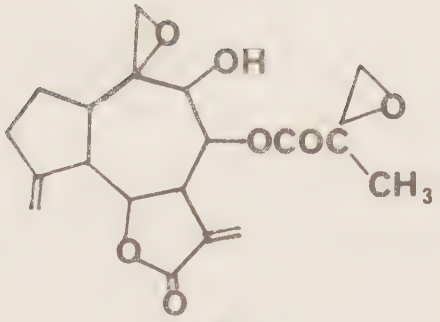


Une disposition stéréochimiquement favorable des fonctions est nécessaire pour que s'effectue une réaction de voisinage de ce type (117) ; ainsi, l'acétoxy-3β époxy-4β, 5β cholestane 43 ne conduit, dans les mêmes conditions que plus haut, qu'à l'acétoxy-3β cholestanediol-4β, 5α 44. Ce qui respecte la règle de Furst-Plattner sur l'ouverture "trans" des époxydes (118).

Par analogie, le même mécanisme peut être invoqué dans le cas du sublutéolide. Il impose la vicinalité de l'alcool secondaire et de l'époxyde spiro (voir schéma ci-contre), ce qui permet de préciser les formules A et B précédemment tracées :



A'

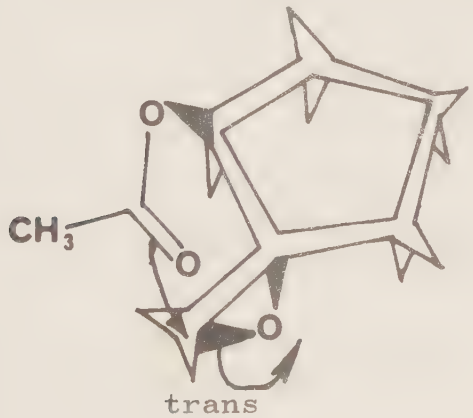


B'

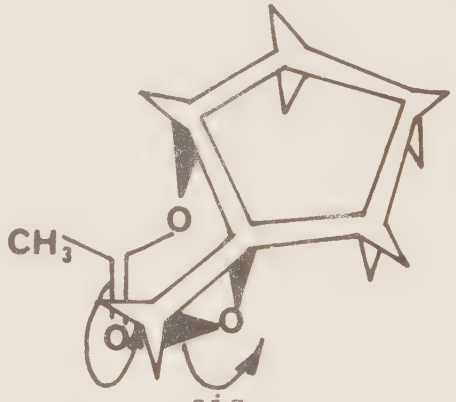
A ce niveau, la multiplicité du signal de R.M.N. du proton H-C-OH (dd) serait en faveur de la formule A'.

Des expériences de double résonance sélective réalisées à 240MHz confirment cette structure A (Figure XV et Tableau XI, page 68).

De manière analogue au cas précité, cette réaction de voisinage de l'acétate et de l'époxyde implique une disposition relative trans de ces 2 fonctions (117) :



trans
"Réarrangement possible"



cis
"Réarrangement impossible"

Comme dans le problème général de l'étude de structure des lactones sesquiterpéniques, il reste à déterminer les positions relatives de l'ester et de la lactone, simultanément à la détermination de la configuration du sublutéolide.

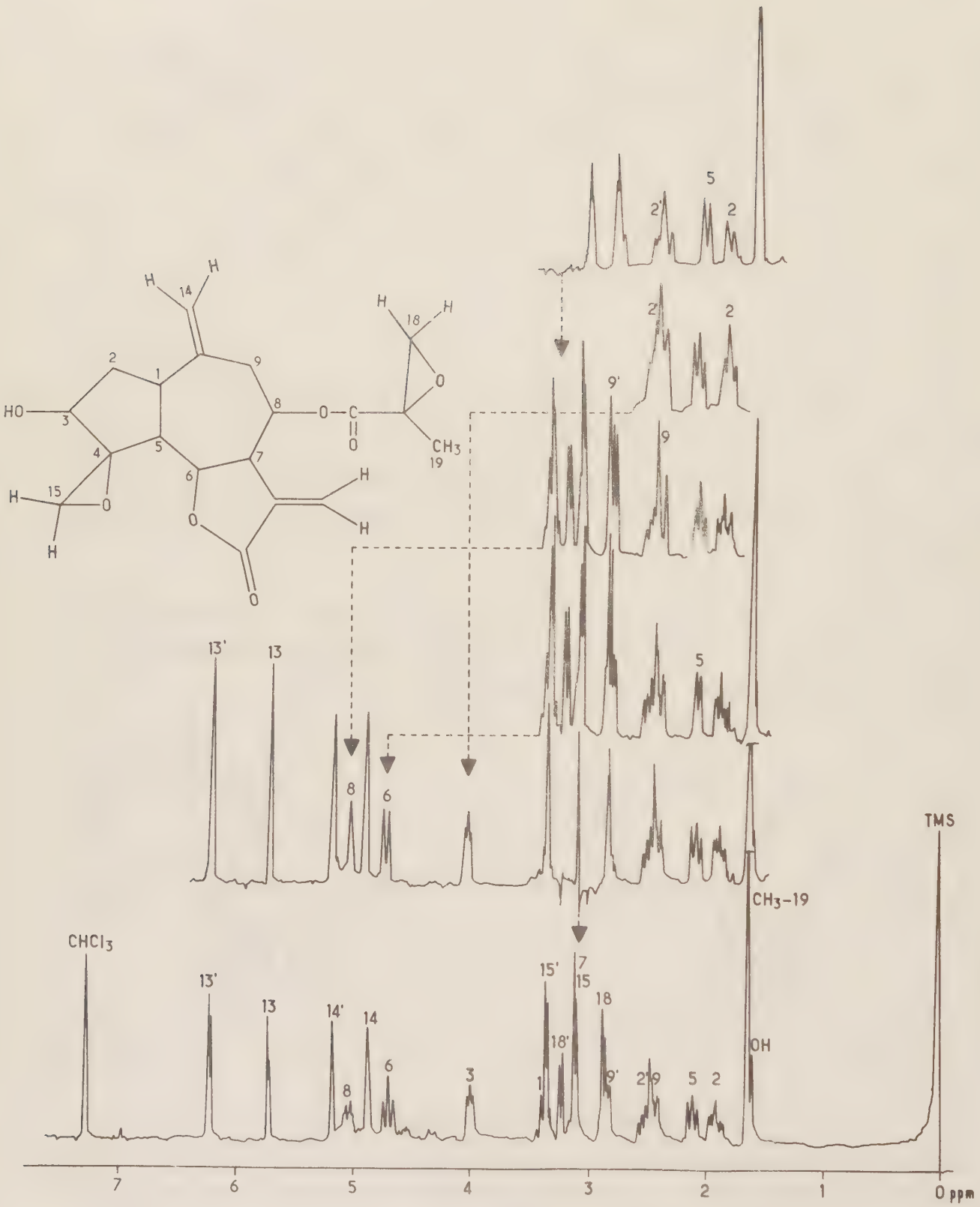


FIGURE XV : Spectres de R.M.N. et de double résonance magnétique nucléaire du sublutéolide ($CDCl_3$, 240MHz).

DECOUPLAGE DU SUBLUTEOLIDE 12

(240MHz, $CDCl_3$)

Signal irradié	Signal perturbé	Changement observé	Conclusions
H-7 H-15 (3,10)	H-6 4,62 dd (11;9) H-8 5,04 ddd(10;3;5) H-13 5,72 d (3) H-13' 6,25 d (3,5)	d (11) m s s	$J_{7,6}$ = 9 $J_{7,8}$ = 9 $J_{7,13}$ = 3 $J_{7,13'}$ = 3,5
H-8 (5,04)	H-9 2,34 dd (14;3) H-9' 2,80 dd (14;5)	d (14) d (14)	$J_{8,9}$ = 3 $J_{8,9'}$ = 5
H-6 (4,62)	H-5 2,08 dd (11;9) H-7 3,12 m recouvert par H-15	d (9) simplifié	$J_{6,5}$ = 11
H-3 (4,00)	H-2 1,86 ddd(14;9,5;4,5) H-2' 2,48 ddd(14;9;7)	dd (14;9,5) dd (14;9)	$J_{3,2}$ = 4,5 $J_{3,2'}$ = 7
H-1 H-15' (3,40)	H-2 1,86 ddd(14;9,5;4,5) H-2' 2,48 ddd(14;9;7) H-5 2,08 dd (11;9)	dd (14;4,5) dd (14;7) d (11)	$J_{1,2}$ = 9,5 $J_{1,2'}$ = 9 $J_{1,5}$ = 9
Spectre de différence (figure XVIII, page 72)			
H-5 (2,08)	H-6 (4,62) dd (11;9) d (9) H-1 (3,40) ddd (9;9;9,5) dd (9;9,5)		$J_{5,6}$ = 11 $J_{5,1}$ = 9

TABLEAU XI

2 - Positions respectives de la γ-lactone et de l'ester

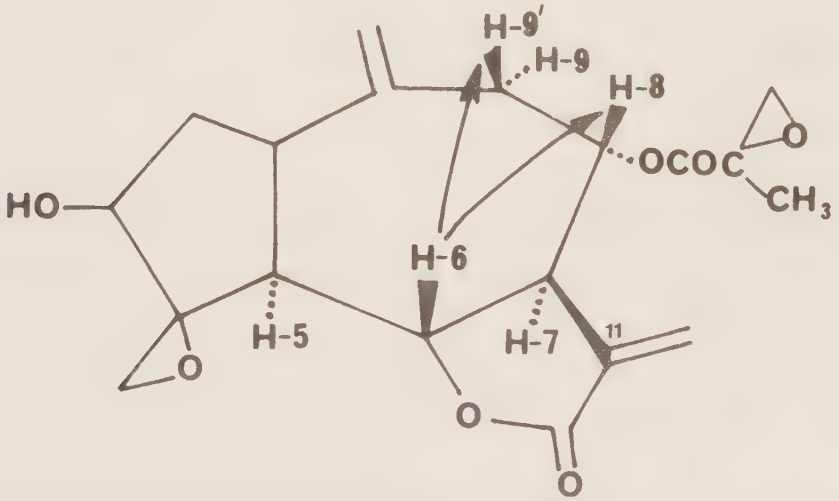
Compte tenu des quantités limitées de sublutéolide obtenues et du caractère amorphe de celui-ci, aucune corrélation chimique, ni étude cristallographique, n'ont pu être entreprises. Nous avons donc eu recours exclusivement aux données de la R.M.N. et du dichroïsme circulaire.

Les valeurs fortes observées pour les constantes de couplage des protons vicinaux H-5, H-6, H-7 et H-8 ($J_{5,6}$=11Hz ; $J_{6,7}=J_{7,8}$=9Hz) sont en faveur d'une disposition trans diaxiale de ces protons entre eux (119).

La courbe de dichroïsme circulaire présente un effet Cotton négatif à 264nm ($\Delta\varepsilon$=-0,33) en faveur d'une jonction sur le carbone 6 de la γ-lactone (32) (voir les notions préliminaires, page 14).

Des expériences d'effet Overhauser* confirment ces attributions et précisent la conformation générale de la molécule** :

L'irradiation de H-6 (dd à 4,62) provoque une augmentation des signaux de H-8 (ddd à 5,04) et de H-9' -dd à 2,80) de 6 et 14% respectivement.



---

* Les effets Overhauser ont été enregistrés en transformée de Fourier, sur I.E.F. 240 (Orsay) (28) par une séquence de différence (voir les notions préliminaires, page 12 et la figure, page 72). La solution utilisée contient 5mg de sublutéolide dans 0,5ml de $CDCl_3$; elle est dégazée et conservée en tube scellé.

** Par analogie avec toutes les lactones sesquiterpéniques de configuration absolue connue (35), nous avons représenté l'énantiomère ayant la liaison C-7 - C-11 en position β.

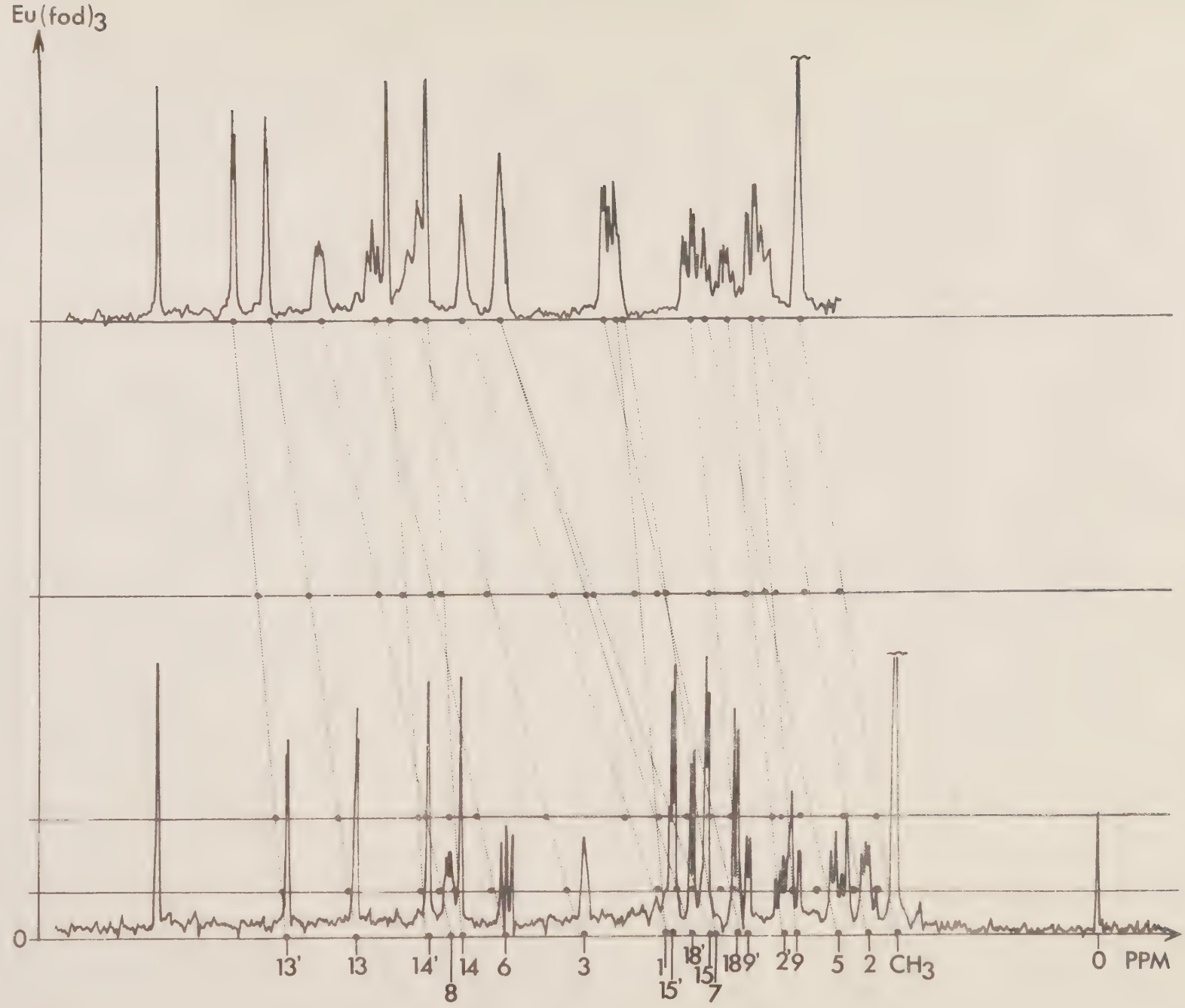


FIGURE XVI

3 - Configuration relative des protons H-2, H-2' et H-3

En présence de chélates de terre rare, les spectres de R.M.N. de la plupart des composés organiques possédant un groupement fonctionnel ayant une paire d'électron disponible (base de Lewis) présentent des déplacements paramagnétiques* induits (120).

Ces déplacements sont intéressants car ils permettent d'accentuer l'inéquivalence des protons et même d'éliminer des équivalences accidentelles, transformant ainsi un spectre complexe en un spectre du 1er ordre (121).

En outre, comme ces déplacements dépendent de la géométrie du complexe formé, ils renseignent sur la position respective des protons au voisinage du centre chélateur. Le déplacement chimique induit d'un proton étant d'autant plus important que ce proton est situé plus près du chélate (122).

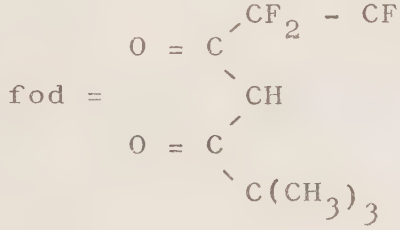
Nous avons appliqué cette technique à l'étude du sublutéolide** afin d'obtenir des informations sur la configuration de la molécule au voisinage de la fonction alcool.

Les déplacements chimiques de tous les protons du sublutéolide sont identifiés et pour chaque ajout en chélate des expériences de découplage permettent d'attribuer, à nouveau, les signaux.

---

* Dans le cas le plus général où le lanthanide est l'europium -$Eu(dpm)_3$ ou $Eu(fod)_3$-, mais les complexes du praseodyme -$Pr(dpm)_3$ ou $Pr(fod)_3$- produisent des déplacements diamagnétiques (déplacement vers les champs forts) (123).

** Ce travail a été réalisé sur l'appareil expérimental I.E.F. 240 (Orsay), avec 5mg de sublutéolide dissous dans 0,5ml de $CDCl_3$. Le réactif paramagnétique employé est le $Eu(fod)_3$ très soluble dans $CDCl_3$ et qui n'élargit que faiblement les raies de résonance (125).



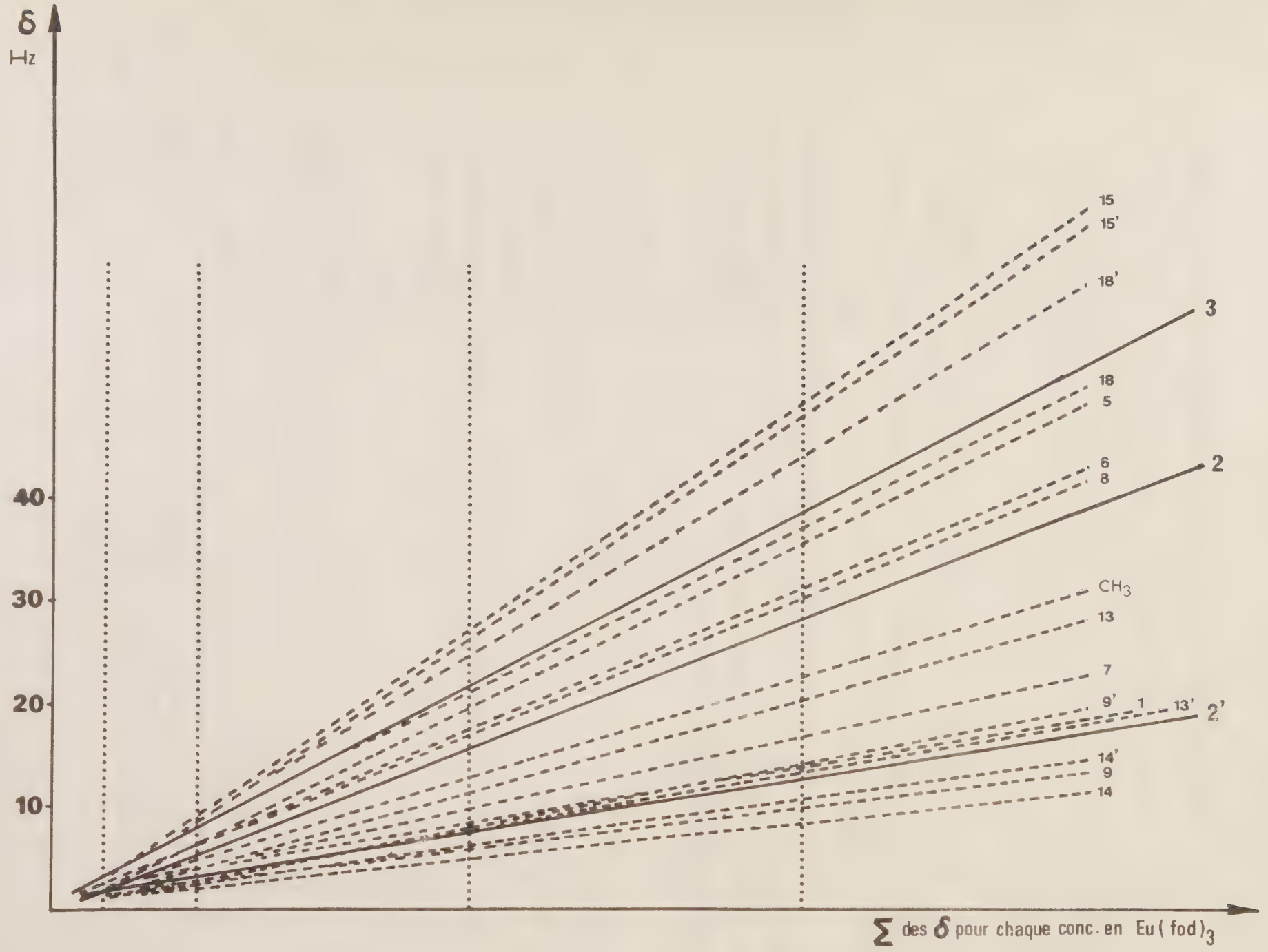
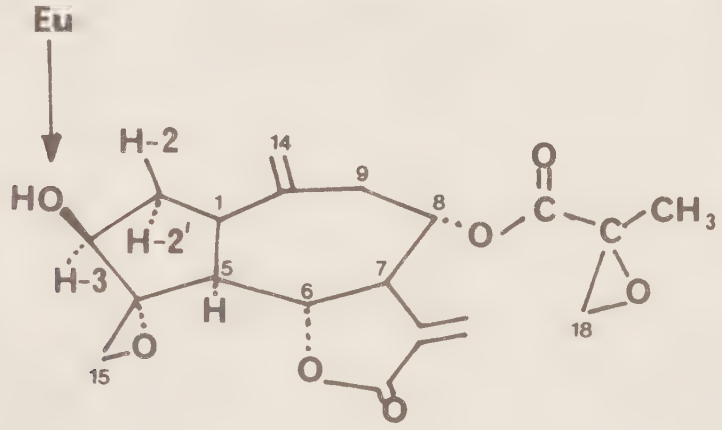

δ
Hz
40
30
20
10
15
15'
18'
3
18
5
6
8
2
CH3
13
7
9'
1
13'
2'
14'
9
14
Σ des δ pour chaque conc. en Eu (fod)3

FIGURE XVII

La figure XVI, page 70, montre deux spectres obtenus avec des concentrations différentes d'europium ainsi que l'ensemble des droites représentant les déplacements induits en fonction de la quantité de chélate (le pic du chloroforme étant pris comme référence interne).

Le graphique XVI ci-contre donne en ordonnée les déplacements chimiques induits de chaque proton et en abscisse la somme des déplacements chimiques induits pour chaque concentration en chélate (124).

Les grands déplacements paramagnétiques des protons H-15, H-15', H-18, H-18' et H-3 traduisent la présence de plusieurs sites de complexation ; à la fois au niveau des époxydes spiro (126) et de l'alcool (127), ce qui exclut toute interprétation quantitative des différents déplacements induits (128).



Cependant, on peut relier la différence relative des déplacements induits de H-2 (ddd à 1,86) et H-2' (ddd à 2,48) à leurs positions relatives vis-à-vis de l'OH en 3 ; H-2 qui subit le plus important déplacement paramagnétique devant se trouver plus près de l'OH que H-2' (représentation ci-dessus).

4 - <u>Configuration du carbone 1 et conformation générale de la molécule</u>

Quelques expériences d'effet Overhauser nucléaires ont permis de relier entre eux tous les éléments de stéréochimie

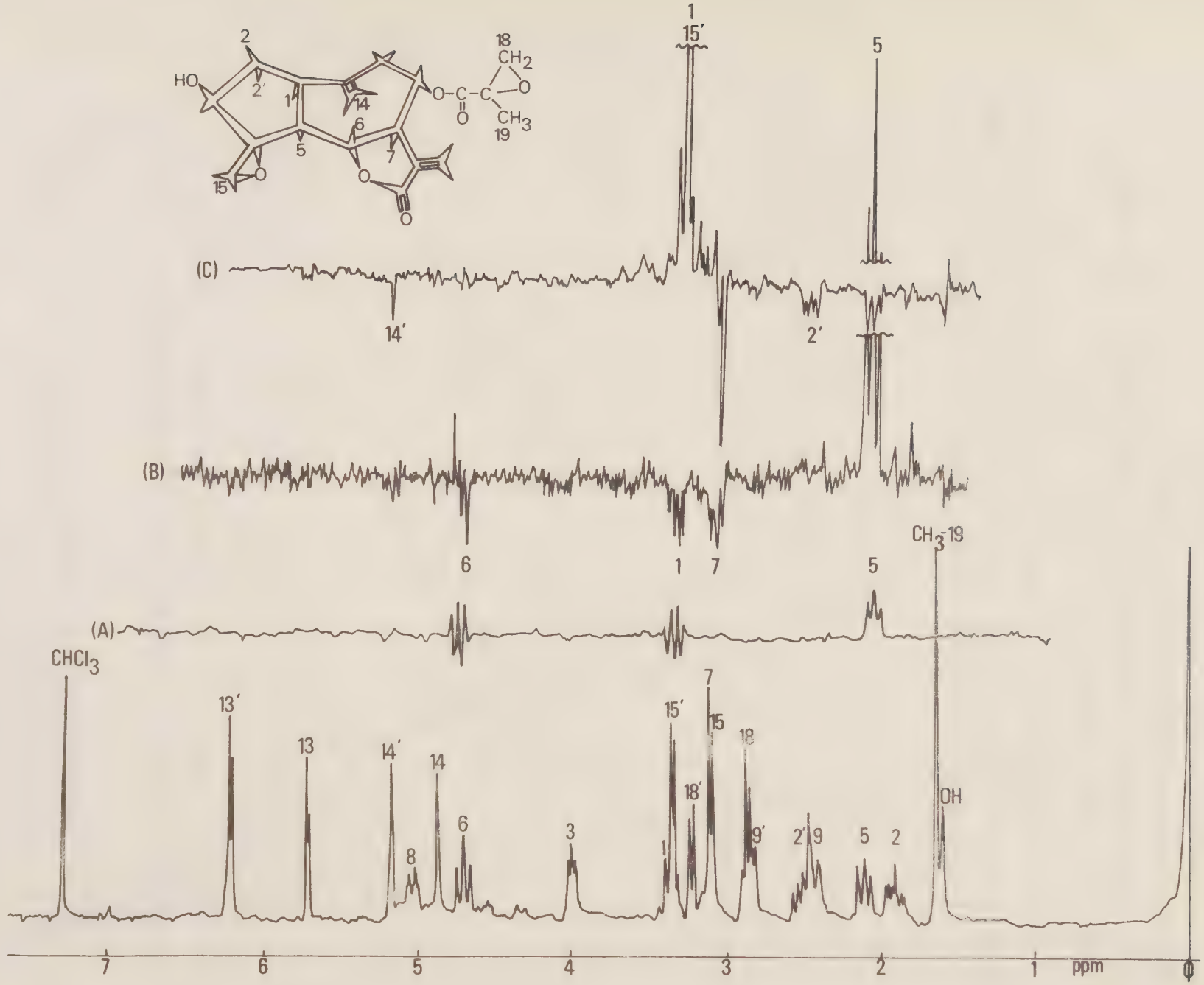
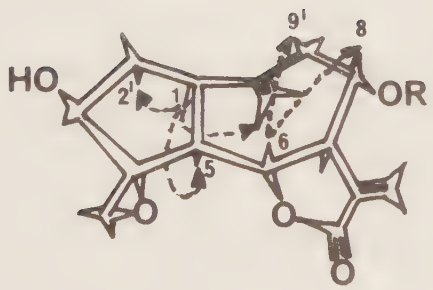


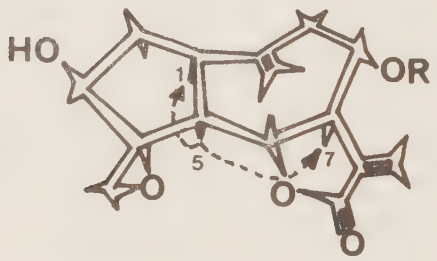
FIGURE XVIII : Spectre de R.M.N. du sublutéolide. (A) spectre de différence ; (B) et (C) mesures des effets N.O.E. ($CDCl_3$, 240MHz).

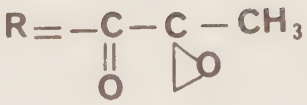
Protons saturés	Protons perturbés	Effet Overhauser %
H-6 (4,62)	H-8 (5,04) H-9' (2,80)	6% 14%
H-5 (2,08)	H-1 (3,40) H-7 (3,12)	11% 13%
H-1 H-15' (3,40)	H-2' (2,48) H-5 (2,08) H-14' (5,19)	10% 20% 5%

TABLEAU XII

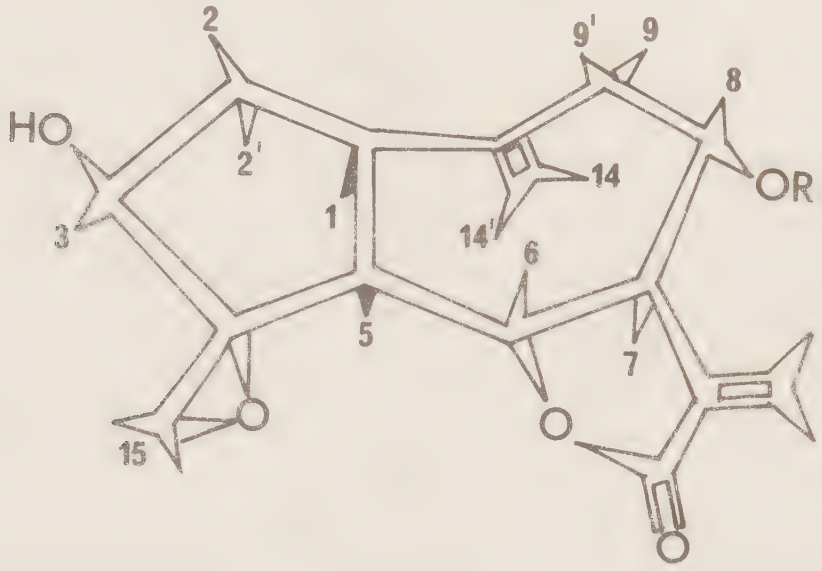
Tableau des effets Overhauser nucléaires







déterminés plus haut et conduisent à proposer pour le sublutéolide la configuration relative suivante :



Les résultats de ces expériences (tableau et figure page 72) déterminent pour H-2', H-1, H-5, H-7 et H-14' une orientation commune ; de manière analogue, H-6, H-8 et H-9 se trouvent disposés sur l'autre face de la molécule. On en déduit :

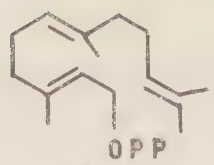
. la disposition cis des deux cycles avec H-1 et H-5 en position α,

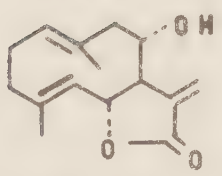
. la disposition relative des protons H-2 et H-2' vis-à-vis de H-1 ; l'irradiation de H-1 (m à 3,40) entraînant une augmentation de 10% de l'intensité du signal de H-2' (ddd à 2,48) et de 0% du signal de H-2 (ddd à 1,86).

Et on confirme la disposition trans diaxiale des protons H-8, H-7, H-6 et H-5 entre eux.

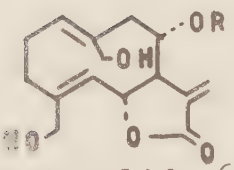
Les effets Overhauser du proton H-1 (m à 3,40) sur le proton H-14' (s élargi à 5,19) et du proton H-6 sur le proton H-9' (dd à 2,80) précisent la conformation générale de la molécule.

On note que la constante de couplage - $J_{1\alpha,5\alpha}$=9Hz - est en accord avec ce qui est signalé dans la littérature (129) ; cependant, sa valeur ne permettait pas de prévoir la fusion cis ou trans des deux cycles, la constante de couplage $J_{1\beta,5\alpha}$ n'étant que légèrement supérieure, de l'ordre de 10 à 12Hz (130).



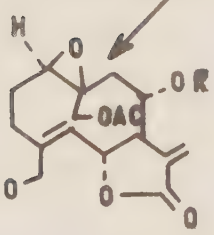


[O]



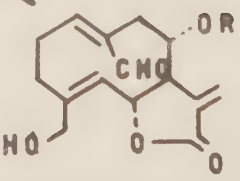
Pectorolide 6

[O]



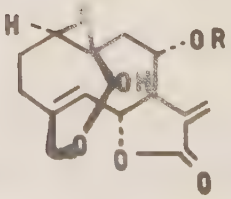
Vernopectolide-A 7

[O]



Vernopectolide-B 8

[O]



Vernolide 1

Hydroxyvernolide 2

R = ester, pour plus de commodité
sa nature n'est pas précisée
sur le schéma.

C H A P I T R E V

CONCLUSION

Ce travail nous a permis de déterminer la structure de quelques lactones sesquiterpéniques isolées de trois espèces de plante du genre Vernonia ; ceci a pu être mené à bien grâce aux résultats associés de quelques réactions chimiques déterminantes et des méthodes physiques d'analyse structurale : U.V., I.R., dichroïsme circulaire, spectrométrie de masse, R.M.N. et rayons X.

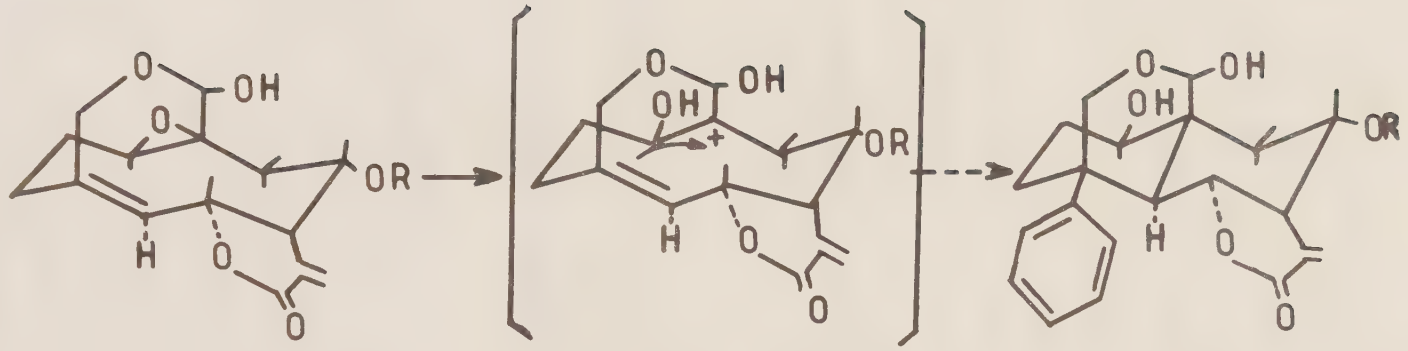
La structure de ces lactones sesquiterpéniques est rappelée dans ce chapitre et les spécificités de chaque structure soulignées ; un schéma de biogénèse possible des lactones sesquiterpéniques isolées des plantes du genre Vernonia est proposé à partir des divers types de squelettes isolés, et un bref bilan de l'activité biologique de ces substances est donné.

RAPPEL DES COMPOSES ETUDIES, SPECIFICITES

1 - Lactones sesquiterpéniques isolées du Vernonia pectoralis Baker

. Cinq germacranolides - dont 3 nouveaux - ont été obtenus à partir du Vernonia pectoralis Baker, var. delphinensis H. Humbert ; ils sont représentatifs de certaines étapes de l'évolution des germacranolides : du pectorolide 6 (le moins oxydé) au vernolide 1 et à l'hydroxyvernolide 2 plus oxydés (schéma ci-contre).

Le pectorolide 6 est le plus simple de ces germacranolides. Il se caractérise par le trans, trans, 1(10), 4(5) cyclodécadiène originel. Les deux méthyles CH_3-14 et CH_3-15 sont oxydés en alcools primaires ; dans le cas des vernopectolides -A et -B des oxydations ultérieures ont eu lieu qui se traduisent par la présence, dans le premier d'un époxyde en 1(10) et d'un acétate en 14, et dans le second d'un aldéhyde en 14.



Vernolide 1

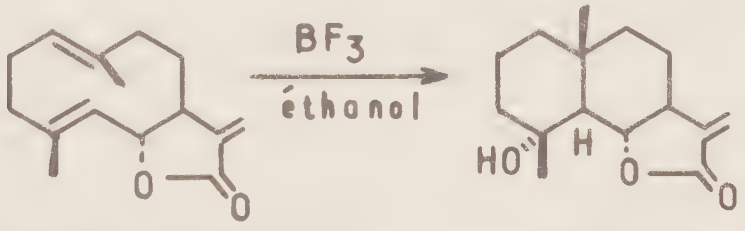
$$R = C(=O)-C(=CH_2)-CH_3$$

Vernodesmine 9

Beaucoup de germacranolides de ce type ont déjà été rapportés dans la littérature (131). On note simplement que l'époxydation *in vitro* du pectorolide 6 se fait préférentiellement sur la double liaison 1(10) - élément déjà connu (62) - et que la configuration "trans" des substituants de l'époxyde formé est identique à celle observée *in vivo* pour le vernopectolide-A 7, le vernolide 1 et l'hydroxyvernolide 2.

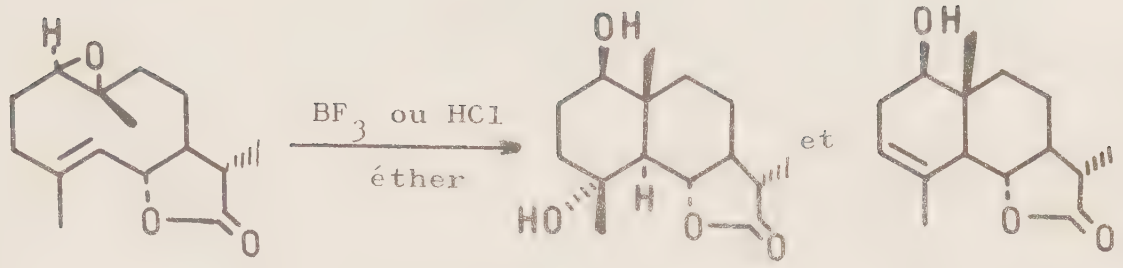
. Un nouvel eudesmanolide a pu être isolé de la même plante ; son originalité est liée à la présence sur le carbone 4 d'un noyau phényle. Pour le reste de sa structure, il pourrait être issu de la cyclisation transannulaire du germacranolide approprié : le vernolide 1 (schéma ci-contre).

Si des expériences de biosynthèse n'ont pas encore démontré, sans ambiguïté, le passage germacrane-eudesmane, de nombreuses réactions chimiquement induites *in vitro* viennent par contre à l'appui d'une telle hypothèse ; ainsi, l'arbusculine-A isolée d'Artemisia arbuscula (132) avait été préalablement obtenu lors de la cyclisation acidocatalysée du costunolide (133) :



Costunolide — Arbusculine-A

et le traitement du 1(10) époxy 11 (13) dihydrocostunolide par l'acide chlorhydrique ou le BF_3 livre plusieurs eudesmanolides (134).



L'isolement simultané du vernolide 1 et du vernodesmine 9 à partir de la même plante est aussi en faveur de cette possible filiation.

La fixation du noyau phényle dans le vernodesmine 9 est par contre inattendue*. Il nous est difficile de préciser quelle intervention pourrait justifier d'un tel composé.

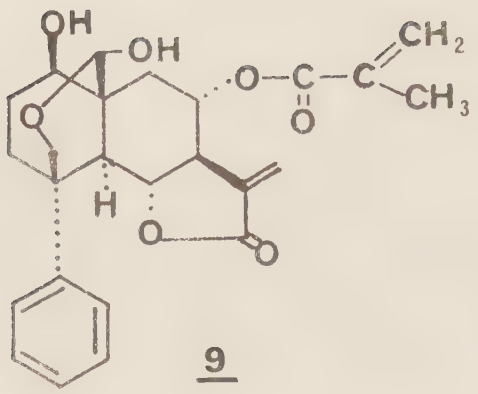
Une autre remarque intéressante peut être faite à partir de ce composé : il possède avec une grande rigidité de structure, l'hémiacétal déjà présent dans le vernolide 1 et l'hydroxyvernolide 2.

Par contre, dans le vernopectolide-B 8, isolé de la même plante l'équilibre se trouve entièrement déplacé vers la forme ouverte.

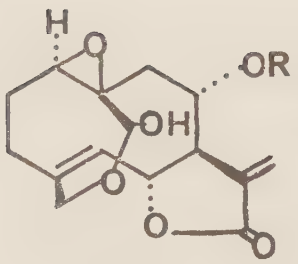
Si dans le vernodesmine 9 la rigidité imposée par les deux cycles à 6 chaînons est favorable à l'hémiacétalisation, par contre, la configuration du vernolide 1 et du vernopectolide-B 8 sont équivalentes et tendent à minimiser l'importance des facteurs stériques favorables ou défavorables à la cyclisation. Le peu d'influence des facteurs stériques sur l'équilibre entre la forme hémiacétalique cyclique et la forme ouverte a par ailleurs été mise en évidence sur des molécules modèles plus simples (135).

---

* L'hypothèse d'un artefact a été éliminée par des extractions et purifications menées en l'absence totale de solvants aromatiques.



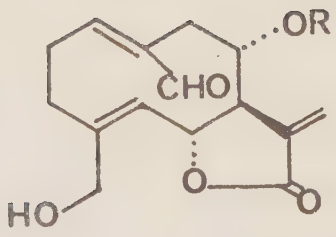
9



1 R = C(=O)–C(=CH2)–CH3

2 R = C(=O)–C(=CH2)–CH2OH

46 R = C(=O)–CH(CH3)–CH3



8 R = C(=O)–C(=CH2)–CH3

45 R = H

Nous avons donc considéré les facteurs polaires et de résonance qui pouvaient expliquer la différence de comportement de ces divers produits et de l'urospermal 45 ; germacranolide isolé d'Urespermum dalechampii qui se caractérise par une non cyclisation intramoléculaire de l'alcool en 15 et de l'aldéhyde en 14 (136).

On remarque que ces produits ne diffèrent que par la présence d'un époxyde ou d'une double liaison 1(10). Il est donc possible que ces fonctions conditionnent l'hémiacétalisation des deux fonctions en 14 et en 15.

Dans le vernopectolide-B 8 et l'urospermal 45 la conjugaison du >CO de l'aldéhyde stabiliserait la forme ouverte alors qu'à l'inverse l'époxyde 1(10) du vernolide 1 et de ses analogues polariserait la double liaison >C=O et augmenterait sa réactivité avec l'alcool. Une confirmation de l'influence des doubles liaisons conjuguées est donnée par l'exemple des aldéhydes aliphatiques α éthyléniques tels que l'acroleïne et le crotonaldéhyde dont le taux d'hydratation (hemiacétalisation par l'eau) est presque négligeable (135).

De très nombreuses lactones sesquiterpéniques ont été isolées à partir des différents genres de la famille des Composées (137), seules trois étaient connues dont la fonctionnalisation des deux carbones 14 et 15 ait conduit à un hémiacétal : le vernolide 1, l'hydroxyvernolide 2 et le vernomygdine 46 [isolé par KUPCHAN du Vernonia amygdalina Del. (91)]. Cette évolution paraît donc être une caractéristique propre au genre Vernonia.

2 - Lactones sesquiterpéniques isolées du Vernonia guineensis Benth.

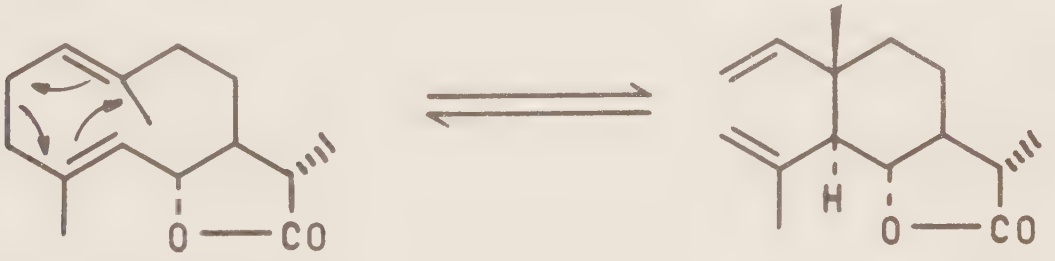
Deux élémanolides ont été obtenus à partir du Vernonia guineensis Benth. : le vernodaline 10 et le vernolépine 11 (138).

Les discussions quant à l'existence réelle de ce type de produits nous ont amené à faire un bilan des élémanes récemment isolés dont l'existence ne présente pas d'ambiguïté et qui concourent à authentifier nos résultats.

La suspicion quant à l'authenticité des produits de type élémane est liée à la relative facilité avec laquelle un réarrangement de Cope peut être induit in vitro à partir du cyclodécadiène 1(10), 4(5) approprié (139)* :

Germacratriène — Elémène

. Les années 1950-1965 voient contester le titre de "produit naturel" pour les élémanes ; la reconnaissance de la saussurea-lactone comme un artefact dû à la thermolyse du dihydrocostunolide (140) concourt à faite douter de l'authenticité de ces produits :



Dihydrocostunolide — Saussurea-lactone

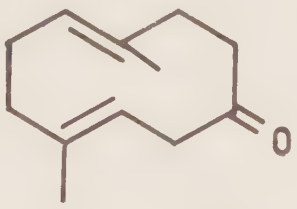
---

* Il a été démontré que des températures modérées utilisées au cours des extractions suffisent à induire ce réarrangement (142).

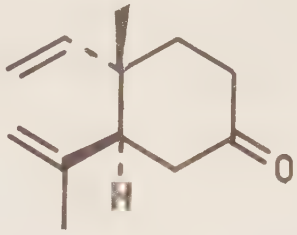
Les discussions les plus complètes dans ce domaine sont dues à M.D. SUTHERLAND (141) favorable à la notion d'artefact : mais son argumentation est nuancée et laisse persister des ambiguïtés quant à l'authenticité de ces substances.

. A l'heure actuelle, la vigilance présidant à l'extraction des élémanes et leur caractère plus sophistiqué cautionnent l'existence naturelle de ce squelette (sans pour autant valider les produits précédemment cités).

En particulier, la mise en évidence par A.F. THOMAS, de la geijerone optiquement active ($[\alpha]_D$=+27,8°) est à signaler (143). Un réarrangement de Cope thermiquement induit à partir de la prégeijerone aurait conduit au racémique correspondant (144).



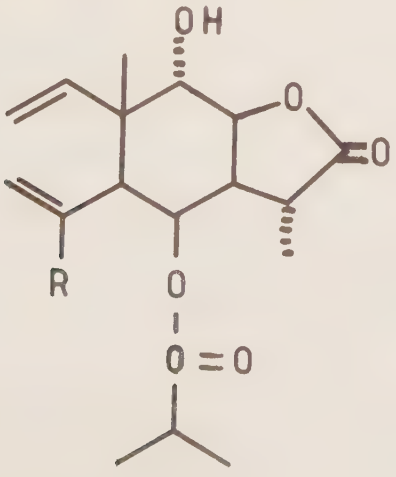
Pregeijerone



Geijerone

On note aussi l'obtention par J. ROMO (145) et W. HERZ (146)(147) de divers élémanolides :

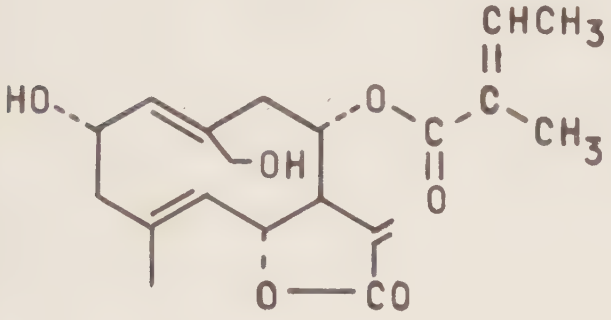
. A partir de Zinnia acerosa la zinarosine et la dihydrozinarosine ont été isolés, et l'accent est mis par ces auteurs (145) sur les précautions adoptées lors de l'extraction.



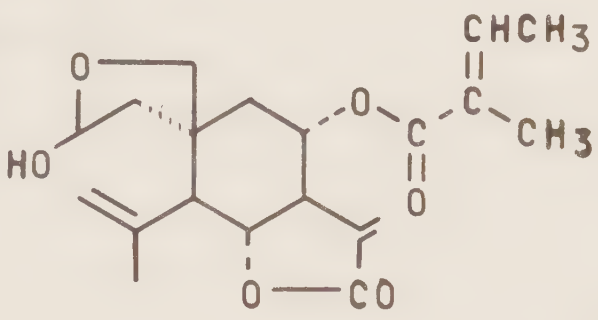
Zinarosine R = CHO

Dihydrozinarosine R = CH_2OH

Dans le même sens, W. HERZ (146) signale l'isolement à partir de deux lots différents d'Eriophyllum confertiflorum du germacranolide l'eriofertine et de l'élémanolide le confertiphyllide ; le même réarrangement in vitro exige une température de 230° exclue lors de l'extraction*.

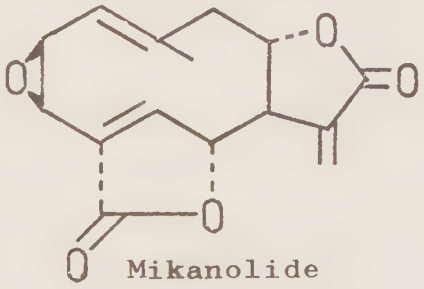


Eriofertine

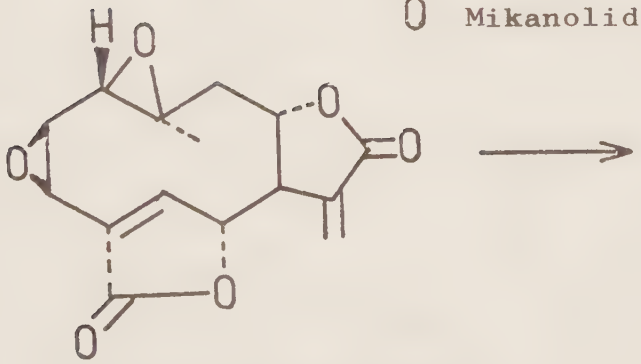


Confertiphyllide

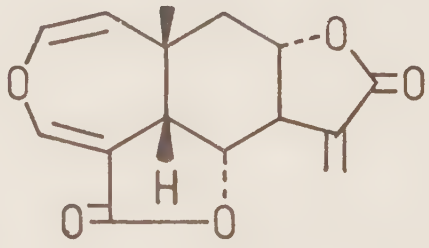
Un précurseur hypothétique du type ci-dessous pourrait aussi être invoqué pour la miscandénine, produit isolé de la même plante que cinq autres germacranolides dont le mikanolide (147).



Mikanolide



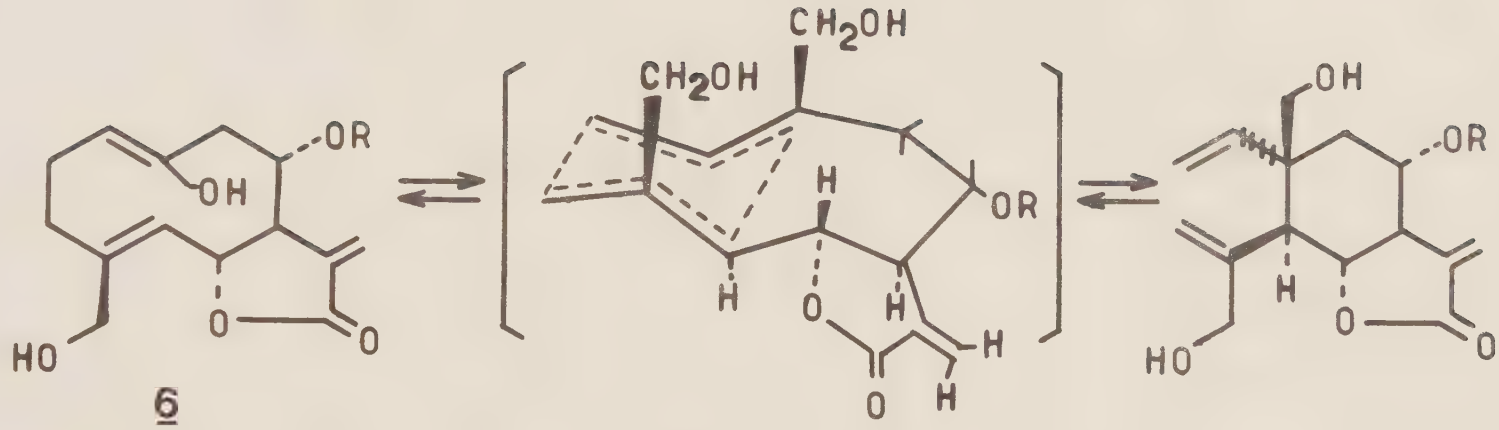
Précurseur hypothétique



Miscandénine

---

* W. HERZ, communication personnelle.


OR
OH
HO
O
O
6
CH2OH
CH2OH
OR
H
H
H
O
H
O
H
OH
OR
H
HO
O
O

La mise en évidence de ces derniers élémanolides fait suite à l'isolement par M. KUPCHAN du vernodaline 10 et du vernolépine 11 : cet auteur a montré la constance du rendement en vernolépine lors d'extractions menées à chaud et à froid (89). Ce sont ces deux mêmes élémanolides qui ont été isolés à partir du Vernonia guineensis Benth., au laboratoire, au cours d'une extraction effectuée sans aucun chauffage.

On remarque que le pectorolide 6 précédemment décrit représente, de par la position de ses doubles liaisons et leur conformation, un modèle favorable à un réarrangement de Cope (148) (ci-contre):

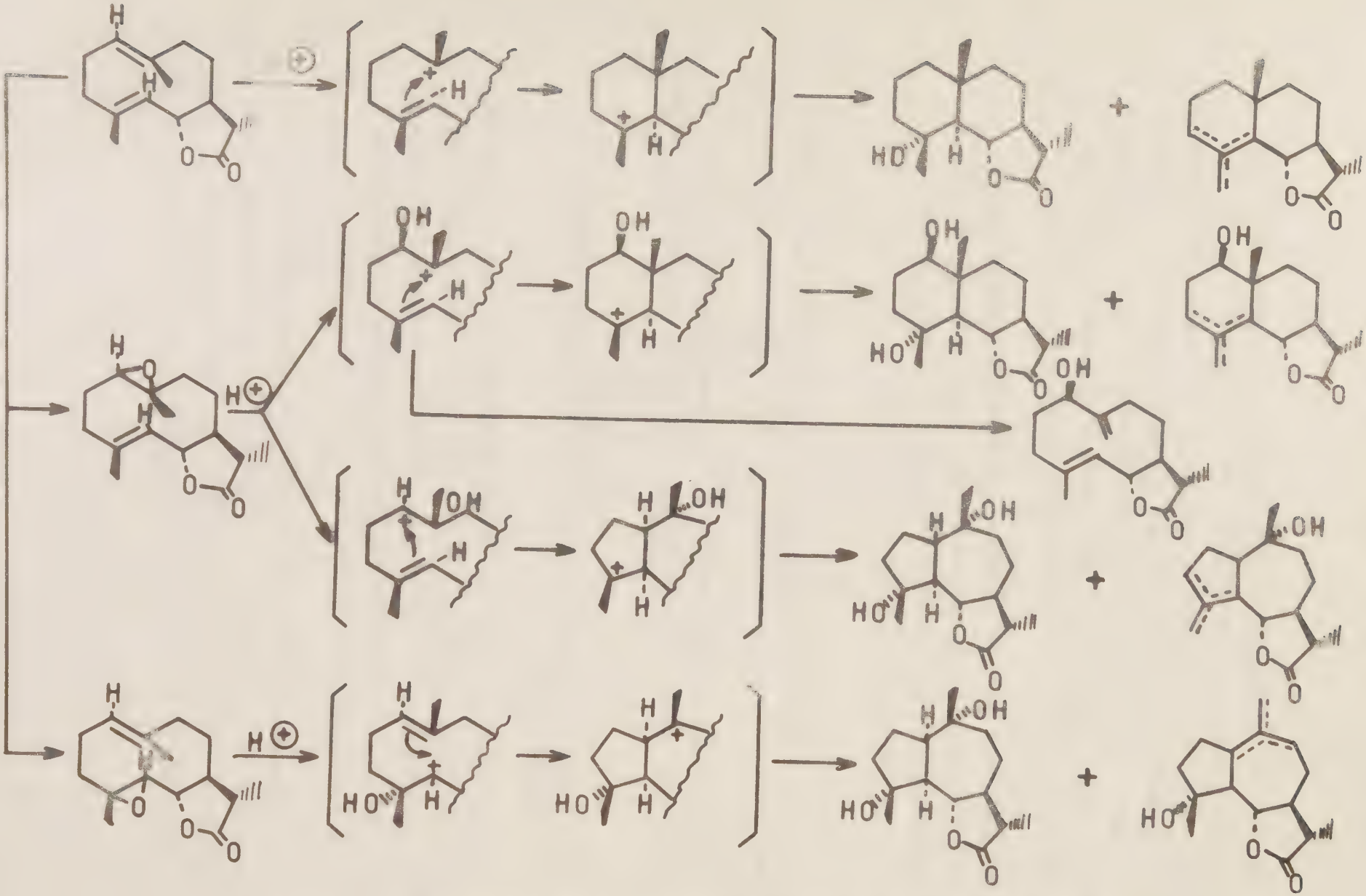
L'élémanolide qui en résulterait, présente une configuration analogue au vernodaline 10 et au vernolépine 11.

Ces remarques suggèrent que le pectorolide 6 pourrait être *in vivo* l'un des précurseurs des deux élémanolides isolés.

3 - Lactones sesquiterpéniques isolées du Vernonia sublutea Scott Elliot.

Le sublutéolide 12 est un guaïanolide ; il a été obtenu à partir du Vernonia sublutea Scott Elliot. Compte tenu des faibles quantités de plante disponible (un échantillon botanique de 500g), la présence d'autres lactones sesquiterpéniques et d'un éventuel précurseur ne peut être exclue.

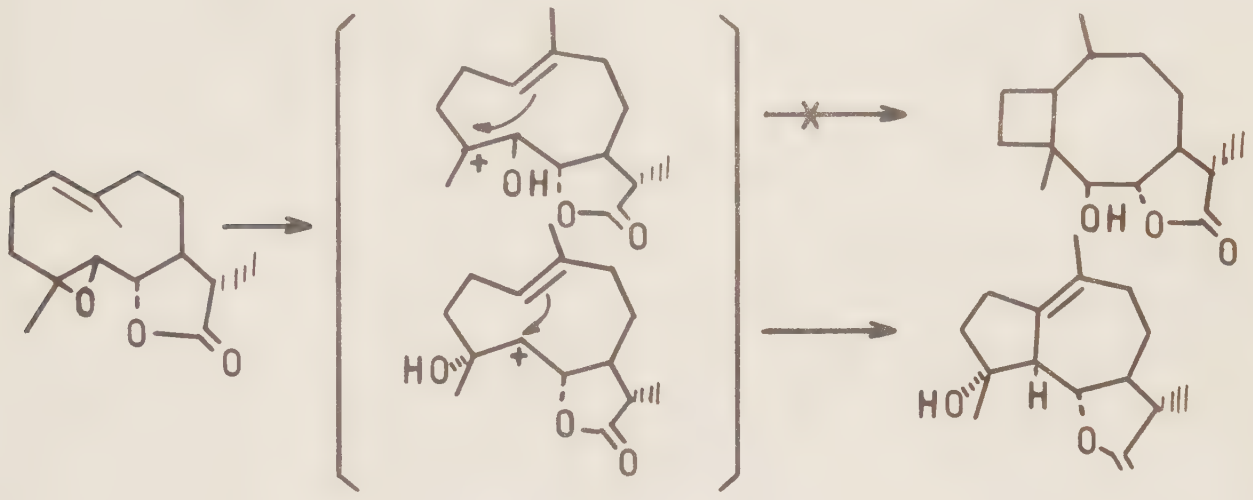
La formation initialement postulée d'un squelette de type gaïanolide à partir d'un système cyclodécadiénique (134) est une hypothèse qui n'a pu être vérifiée que difficilement, ceci compte tenu de la formation préférentielle en présence de divers



Cyclisation <u>in vitro</u> du dihydrocostunolide et de ses dérivés monoépoxydés en 1(10) ou 4(5).

réactifs électrophiles, du squelette eudesmane [schéma ci-contre (149)(150)].

Cependant, le 4(5) époxy 11(13) dihydrocostunolide livre effectivement le produit de type guaïane (150), ce qui exige une étape où il y a formation du carbocation le moins substitué ; dans le cas contraire, c'est un cyclobutane, moins stable, qui aurait été obtenu, ce qui justifie du sens de la cyclisation.



Ce genre de processus ferait dériver le sublutéolide 12 d'un germacranolide époxydé en 4(5).

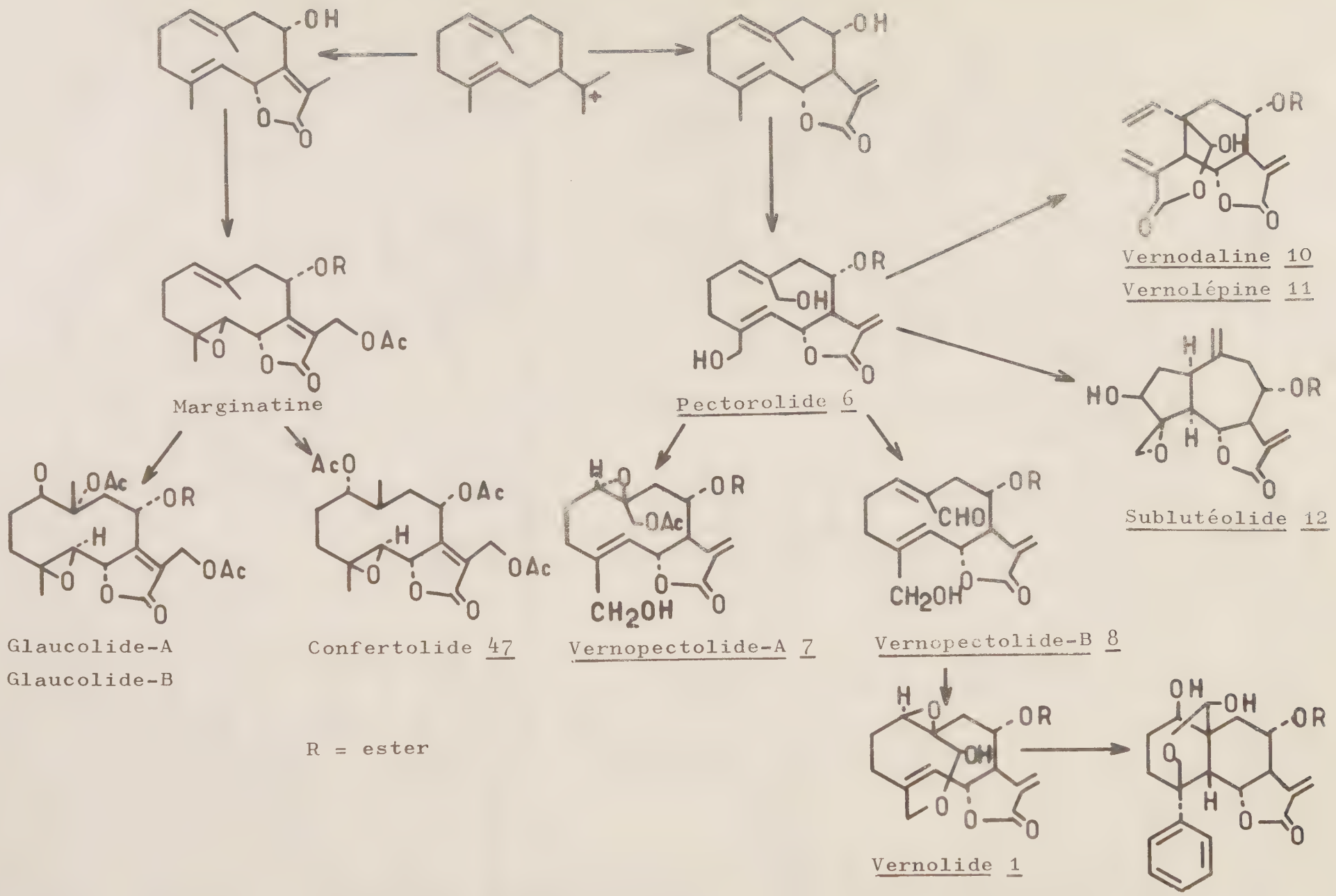


FIGURE XIX : Biogénèse possible des lactones sesquiterpéniques isolées des plantes du genre Vernonia

PROPOSITION D'UN SCHEMA DE BIOGENESE

Un schéma qui relierait entre eux les divers types de squelette peut donc être proposé (voir Figure XIX ci-contre) et peut rendre momentanément compte de l'élaboration des lactones sesquiterpéniques isolées des plantes du genre Vernonia. Il mentionne aussi le confertolide 47 précédemment isolé au laboratoire du Vernonia conferta (Côte d'Ivoire) (151), la marginatine 48 et les glaucolides-A 49 et -B 50 de structures apparentées et isolés de diverses espèces de Vernonia d'Amérique par T.J. MABRY (152) (Tableaux XIII et XIV, page 85).

ACTIVITES BIOLOGIQUES

Les lactones sesquiterpéniques sont des substances amères et toxiques. Leur rôle dans la plante est inconnu ; cependant, certaines études récentes suggèrent que ces métabolites déterminent les interactions de la plante avec d'autres organismes, notamment en éloignant certains insectes prédateurs (153). Leurs activités biologiques in vitro découlent de leur toxicité : propriétés antibiotiques (154), allergéniques (dermatose et eczémas), phytotoxiques (156), cytotoxiques et antitumorales (157).

Dès 1945, il était montré que l'activité antibiotique de ces produits était liée à l'interaction de la γ-lactone α, β insaturée avec des groupements soufrés essentiels au fonctionnement de la bactérie (158). Les nombreuses études suscitées ces dernières années par la recherche de substances anticancéreuses ont confirmé le rôle de la γ-lactone exométhylénique associée à d'autres motifs structuraux [époxyde (114) et ester insaturé (159)], mais n'ont malheureusement conduit, pour l'instant, à aucune substance d'un intérêt thérapeutique.

Un bilan est dressé des différents tests accomplis avec les lactones sesquiterpéniques mentionnées dans ce travail :

. Le vernolide 1* présente une activité cytostatique significative *in vitro* (test KB, ED_{50}=2 µg/ml) et une activité marginale *in vivo* contre le carcinosarcome Walker 256 du rat (WM) (tumeur réduite à 45% de son poids par une dose de 10mg/Kg). Il est sans effet contre les leucémies lymphocytaires L 1210 et P 388 de la souris.

. Le vernodaline 10 présente une activité cytostatique *in vitro* (test KB, ED_{50}=1,8µg/ml). Il est inactif *in vivo* contre les tumeurs solides WM et WA et les leucémies L 1210 et P 388 (91).

. Le vernolépine 11 a été beaucoup étudié par M. KUPCHAN. Il présente une activité cytostatique *in vitro* (test KB, C_{50}=6,52µM) et une activité significative *in vivo* contre le carcisarcome Walker 256 du rat (WM) (tumeur réduite à 32% pour une dose de 14mg/Kg) (89). Il inhibe la croissance des plantes (160) et *in vitro* les enzymes phosphofructokinase (161) et glycogène synthétase (162) avec perte simultanée des groupes SH de l'enzyme. [L'enzyme glycogène synthétase possède - après dénaturation par le dodecylsulfate de sodium - 6SH titrables par protomère. Après inhibition par le vernolépine 1 et dénaturation par le dodecylsulfate de sodium, elle ne possède plus que 3SH titrables par protomère.]

. Une collaboration avec les laboratoires CHOAY nous a permis de montrer que certaines de ces lactones sesquiterpéniques inhibent spécifiquement la thrombine (163).

---

* Tests effectués par le National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, U.S.A. sur 1g de produit préparé au laboratoire par Monsieur C.M. HO.

Test KB : c'est une mesure de l'activité cytotoxique d'un produit sur une culture de cellules néoplasiques provenant d'un carcinome humain du nasopharynx. ED_{50} : c'est en µg/ml la concentration de produit nécessaire pour réduire de moitié la croissance de la culture. Un produit est considéré comme dépourvu d'activité si l'ED_{50} est supérieur à 100µg/ml, alors qu'une substance ayant un $ED_{50} \leq 4$µg/ml présente une activité cytostatique significative.

Etudes in vivo : pour les tumeurs solides (WM), une substance est considérée comme active lorsque le poids de la tumeur est ≤42% du poids de la tumeur des animaux de contrôle.

Taxa and geographical distributions	Major sesquiterpene lactone
Section: Lepidaploa (New World)	
Subsection: Paniculatae verae (U.S. & Sierra Madre Oriental, Mexico)	
V. acaulis (Walt.) Gl.	Glaucolide-A
V. angustifolia Michx.	Glaucolide-A
V. blodgettii Small	Glaucolide-A
V. gigantea (Walt.) Trel ex Branner & Colville	Glaucolide-A
V. glauca (L.) Willd.	Glaucolide-A
V. lettermannii Engelm. ex Gray	Glaucolide-A
V. missurica Raf.	Glaucolide-A
V. noveboracensis (L.) Michx.	Glaucolide-A
V. texana (Gray) Small	Glaucolide-A
V. greggii Gray	Glaucolide-A
V. baldwinii Torr.	Glaucolide-B
V. arkansana DC.	Marginatin
V. fasciculata Michx.	Marginatin
V. marginata (Torr.) Raf.	Marginatin
V. larsenii King	Glaucolide-F
V. lindheimeri Engelm. & Gray	Glaucolide-F
V. pulchella Small	No detectable amounts of sesquiterpene lactones
V. flaccidifolia Small	No detectable amounts of sesquiterpene lactones
Subsection: Paniculatae umbelliformes (Central Mexico)	
V. alamanii DC.	Glaucolide-A
V. capreaefolia (Sch. Bip.) Gl.	Glaucolide-A
V. liatroides DC.	Glaucolide-A
Subsection: Scorpioideae foliatae	
V. divaricata Sw. (Jamaica)	Glaucolide-B
V. fruticosa (L.) Sw. (Dominican Republic)	Glaucolide-B
Subsection: Scorpioideae aphyllae	
V. canescens H.B.K. (Central America)	Glaucolide-B
V. cordata H.B.K. (Mexico)	Glaucolide-F
V. patens H.B.K. (Central America)	No detectable amounts of sesquiterpene lactones
Subsection: Not known	
V. incana Less. (Argentina)	Glaucolide-A
V. nudiflora Less. (Argentina)	Glaucolide-A
V. brevifolia Less. (Argentina)	Glaucolide-B
Section: Eremosis (Mexico)	
V. duncanii S. B. Jones	Glaucolide-B
V. leiocarpa DC.	Glaucolide-F, G, H†
V. obtusa (Gl.) Blake	Glaucolide-F
V. salicifolia (DC.) Sch. Bip.	Glaucolide-D, E
V. steetzii Sch. Bip.	Glaucolide-C
V. uniflora Sch. Bip.	Glaucolide-A, D, E, G†

TABLEAU XIII

Distribution des lactones sesquiterpéniques dans les espèces américaines des plantes du genre Vernonia

Lactones sesquiterpéniques	Espèces étudiées	Pays de récolte	Réf.
Vernolide 1	V. colorata Drake	Côte d'Ivoire	(1)
	V. amygdalina Del.	Ethiopie	(91)
	V. pectoralis Baker var. delphinensis H. Humbert	Madagascar	(36)
	V. grandis (DC) Humbert	Madagascar	(164)
Hydroxy-vernolide 2	V. colorata Drake	Côte d'Ivoire	(1)
	V. pectoralis Baker var. delphinensis H. Humbert	Madagascar	(36)
	V. grandis (DC) Humbert	Madagascar	(164)
Vernomygdine 45	V. amygdalina Del.	Ethiopie	(91)
Confertolide 47	V. conferta Benth	Côte d'Ivoire	(151)
Vernodaline 10	V. amygdalina Del.	Ethiopie	(91)
	V. guineensis Benth	Côte d'Ivoire	(138)
Vernolépine 11	V. hymenolepsis A. Rich	Ethiopie	(89)
	V. guineensis Benth	Côte d'Ivoire	(138)
Vernomenine	V. hymenolepsis A. Rich	Ethiopie	(89)
Pectorolide 6 Vernopectolide-A 7 Vernopectolide-B 8 Vernodesmine 9	V. pectoralis Baker var. delphinensis H. Humbert	Madagascar	(36)
Sublutéolide 12	V. sublutea Scott Elliot	Madagascar	(107)

TABLEAU XIV

Distribution des lactones sesquiterpéniques dans les espèces africaines des plantes du genre Vernonia

P A R T I E E X P E R I M E N T A L E

1 - TECHNIQUES GENERALES D'ANALYSE

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil de Kofler à platine chauffante et sont corrigés.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un "Quick-polarimètre" électronique Roussel-Jouan à la raie D de la lampe à vapeur de sodium.

Les analyses centésimales ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyse du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette.

Les spectres ultraviolets ont été mesurés avec un spectrophotomètre "Spectronic 505" Bausch et Lomb.

Les spectres infrarouges ont été réalisés sur un appareil Infracord 257 de Perkin-Elmer.

Les spectres de dichroïsme circulaire ont été enregistrés avec un dichrographe Roussel-Jouan "C.D.185".

Les spectres de masse ont été effectués sur un spectrographe de masse A.E.I., MS9.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton ont été mesurés à l'aide des spectromètres Varian HA 60 (60MHz) Brüker HX90E (90MHz) et I.E.F. 240 (240MHz) et les spectres de résonance magnétique nucléaire du carbone 13 sur Brüker HX90E (à 22,63MHz). Les déplacements chimiques δ sont comptés à partir de la raie du tétraméthylsilane et sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage J sont données en Hertz (Hz).

2 - METHODES GENERALES D'EXTRACTION ET DE PURIFICATION

EXTRACTION DES LACTONES SESQUITERPENIQUES

Les feuilles et tigelles séchées sont finement broyées et délipidées par l'éther de pétrole, puis extraites au chloroforme. La technique employée est une lixiviation à température ambiante.

L'extrait chloroformique, amené à sec puis dissous dans le volume minimum d'éthanol, est débarrassé de la chlorophylle. L'emploi de charbon végétal permet la précipitation de la chlorophylle par simple addition d'eau tiède (60°).

Après quelques heures, la solution hydroalcoolique est filtrée, puis concentrée sous vide et successivement épuisée à l'éther de pétrole et au chloroforme.

Le résidu chloroformique obtenu se révèle généralement complexe sur couche mince et doit être chromatographié sur colonne. Pour les produits amorphes, plusieurs colonnes successives sont généralement nécessaires.

Au cours de ce travail nous avons ainsi extrait :

. 5,5Kg de Vernonia pectoralis Baker,

. 10Kg de Vernonia guineensis Benth.,

. 0,5Kg de Vernonia sublutea Scott Elliot.

CHROMATOGRAPHIES SUR COLONNE

L'adsorbant utilisé est le gel de silice Davison 100-200 mesh ; selon la difficulté de la séparation, la quantité de gel utilisée est de 100 à 300 fois supérieure au poids du produit à purifier.

Le volume des élutions est en général le triple du volume de l'adsorbant. Il peut être modifié en fonction de la séparation à accomplir.

La gamme de solvants utilisée afin d'assurer une polarité croissante du système éluant est la suivante : hexane, benzène (de 10 en 10%), chloroforme (de 10 en 10%), acétone (de 1 en 1%, jusqu'à 10%) et méthanol (de 0,1 en 0,1%).

- l'hexane et le benzène sont distillés puis séchés sur sodium ;
- le chloroforme est séché sur chlorure de calcium, puis distillé ;
- l'acétone est chauffée à reflux 3h en présence de permanganate de potassium et d'une solution aqueuse de carbonate de sodium, puis décantée et distillée. L'acétone est ensuite traitée une seconde fois, décantée, distillée, séchée sur carbonate de potassium et distillée à nouveau (165) ;
- le méthanol est séché sur sodium, puis distillé.

Un balayage de la colonne est mis en œuvre préalablement au dépot du produit ; le mélange à chromatographier est introduit lors de la coïncidence de composition de l'élution et du soluté.

La composition des élutions est contrôlée par chromatographie sur couche mince.

CHROMATOGRAPHIES SUR COUCHE MINCE

Les couches minces sont confectionnées au laboratoire, sur plaques de verre à l'aide d'un appareil "Quickfit". Elles ont 0,25mm d'épaisseur.

L'adsorbant utilisé est du gel de silice G "Camag".

Le système de solvants employé pour le développement est constitué de chloroforme et d'acétone en proportions variables.

La révélation est opérée par aspersion d'acide sulfurique dilué à 50%, et combustion sous une lampe à infrarouge.

CHROMATOGRAPHIES EN PHASE GAZEUSE

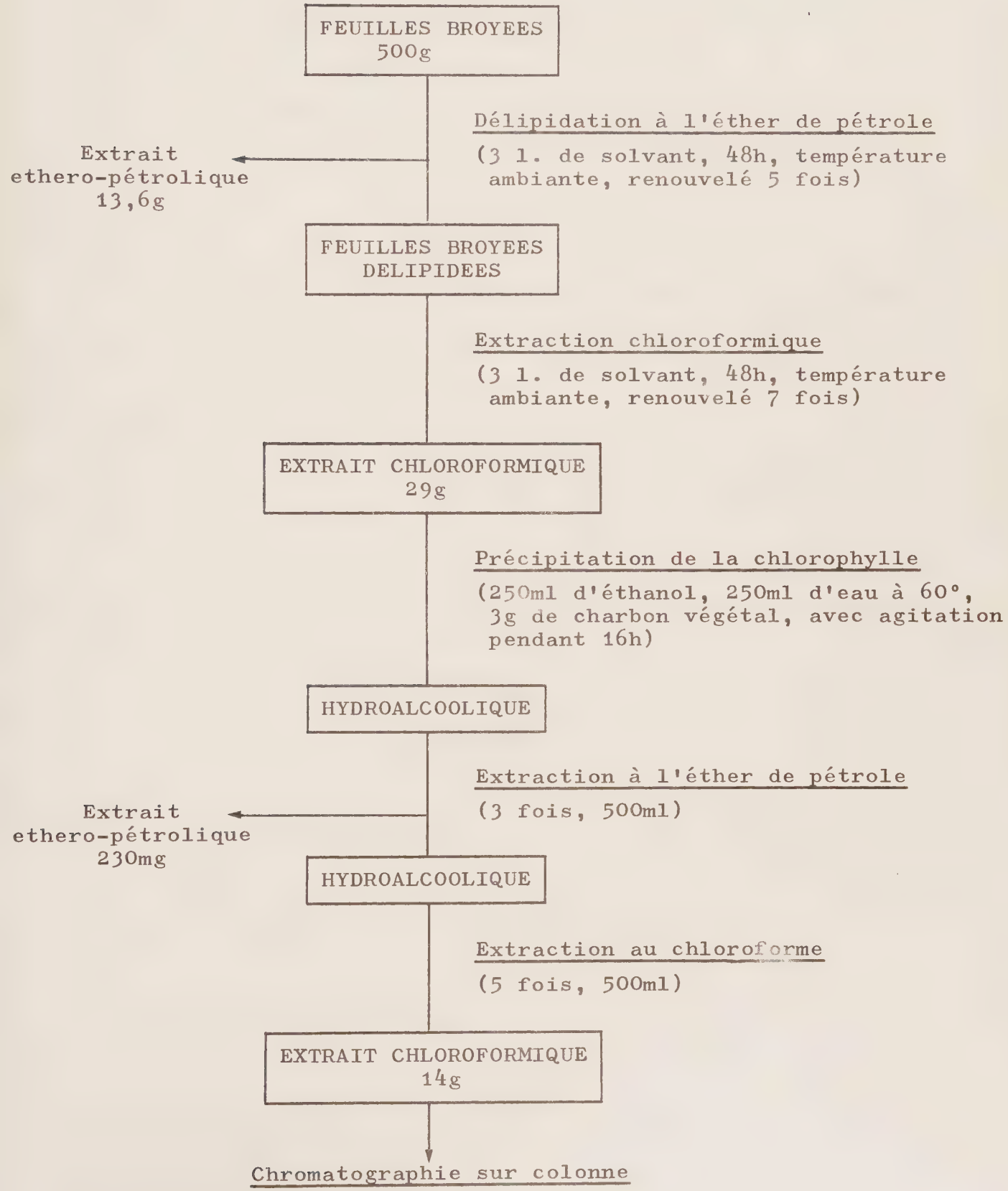
Elles ont été réalisées sur un chromatographe "Profit" type CG_1 à ionisation de flamme avec une colonne O.V. 1 à 10% (longueur 2m, Ø 4mm, gaz chrom. Q, 110-120 mesh) ; température 185° ; débit d'azote : $40cm^3/mn$.

PLAN DE LA PARTIE EXPERIMENTALE

Le plan choisi dans la partie expérimentale est celui qui a été adopté pour la partie théorique.

C H A P I T R E I

EXTRACTION DU VERNONIA PECTORALIS



CHROMATOGRAPHIE DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE

1g d'extrait/300g d'adsorbant/élution de 900ml

Fractions	Eluant	Poids	Produits obtenus
1 à 10	Benzène → chloroforme	traces	
11 à 22	Chloroforme → méthanol (99/1)	5mg	
23 à 29	" " (98,9/1,1)	335mg	vernolide 1
30 à 33	" " (98,9/1,1)	35mg	vernolide 1 + 7 + 21
34 à 45	" " (98,8/1,2)	79mg	vernolide 1 + 7 + 21
46 à 53	" " (98,7/1,3)	74mg	7 + 21 + traces vernolide 1
54 à 57	" " (98,7/1,3)	44mg	7 + 21 + 8 + 9
58 à 61	" " (98,7/1,3)	69mg	8 + 9
62 à 64	" " (98,7/1,3)	43mg	8 + 9 + traces pectorolide 6
65 à 68	" " (98,6/1,4)	220mg	pectorolide 6
69 à 71	" " (98,5/1,5)	23mg	pectorolide 6 + hydroxyvernolide 2
72 à 75	" " (98,4/1,6)	70mg	hydroxyvernolide 2

. le vernolide 1 et l'hydroxyvernolide 2 cristallisent.

. le pectorolide 6 est rechromatographié deux fois avant utilisation.

. les fractions 30 à 64 sont rechromatographiées deux fois avec deux systèmes éluants différents : A et B, ce qui permet d'isoler le vernopectolide-A 7, le vernopectolide-B 8, le vernopectolide-C 21 et le vernodesmine 9.

A : fractions 30 à 64 = 350mg/100g d'adsorbant/élution de 300ml

Fractions	Eluant	Poids	Produits obtenus
1 à 15	Benzène→$CHCl_3$-CH_3OH(99,2/0,8)	traces	
16 à 19	$CHCl_3$-CH_3OH (99,2/0,8)	20mg	vernolide 1
20 à 25	" " " "	28mg	vernolide 1 + 7 + 21
26 à 33	" " " "	75mg	7 + 21
34 à 35	" " " "	8mg	7 + 21 + 8 + 9
36 à 41	" " " "	23mg	8 + 9
42 à 55	" " (99/1)	40mg	8 + 9 + traces pectorolide 6

B : fractions 26 à 33 (colonne A) : 20g d'adsorbant/élution de 60ml

1 à 19	Pentane→pentane-acétate d'éthyle (60/40)	traces	
20 à 24		39mg	vernopectolide-A 7
25 à 30	" " "	15mg	vernopectolide-A 7 et C 21
31 à 38	" " "	6mg	vernopectolide-C 21

B : fractions 36 à 55 (colonne A) : 18g d'adsorbant/élution de 50ml

1 à 14	Pentane→pentane-acétate d'éthyle (60/40)	7mg	
15 à 20		18mg	vernodesmine 9
21 à 24	" " "	13mg	vernodesmine 9 + vernopectolide-B 8
25 à 36	" " "	12mg	vernopectolide-B 8
37 à 60	" " "	6mg	vernopectolide-B 8 + pectorolide 6

. VERNOLIDE 1 :

F = 173-176° (chloroforme-oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +230° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{22}O_7$

calculé %	C 62,97	H 6,12
trouvé %	62,87	6,14

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 208nm (ε=20000)

Spectre I.R. : (nujol)

3380cm^{-1}	OH
1770cm^{-1}	γ-lactone
1725cm^{-1}	ester
1655 ; 1638cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-19	1,96	s élargi
H-9	1,33	dd (10,0 ; 14,5)
H-9'	2,67	dd (2 ; 14,5)
H-7	3,10	m
H-15	3,65	dd (1 ; 14)
H-15'	4,60	dd (1,5 ; 14)
H-14	4,56	s élargi
H-6	5,25	dd (9 ; 10,5)
H-5	5,58	d élargi (10,5)
H-8	5,70	td (10 ; 10 ; 2)
H-18	5,66	m
H-18'	6,12	m
H-13	5,90	dd (0,5 ; 3)
H-13'	6,33	dd (0,5 ; 3,5)

Spectre de masse :

m/e = 362 ($M^{+\cdot}$) ; 344 (M-18) ; 293 (M-69) ; 276 (M-86) ; 258 (M-86-18) ; 69 et 41.

. HYDROXYVERNOLIDE 2 :

F = 150° (avec décomposition)

$[\alpha]_D$ = +135° (c=1 ; dioxanne)

Analyse : $C_{19}H_{22}O_8$

calculé %	C 60,31	H 5,86
trouvé %	59,84	5,81

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 210nm (ε=26000)

Spectre I.R. : (nujol)

3440cm^{-1}	OH
1760cm^{-1}	γ-lactone
1720cm^{-1}	ester
1660cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

H-15	3,68	dd (1 ; 14)
H-15'	4,66	dd (1,5 ; 14)
$\underline{CH_2}$-OH	4,34	s élargi
H-14	4,63	s élargi
H-6	5,30	dd (10 ; 9)
H-8	5,54	m
H-5	5,76	d (élargi) (10)
H-13	5,94	dd (3 et <1)
H-13'	6,36	dd (3,5 et <1)
H-18	6,02	m
H-18'	6,28	m

Spectre de masse :

m/e = 378 très faible ($M^{+\cdot}$) ; 360 (M-18) ; 276 (M-102) ; 258 (M-102-18) ; 85 et 57.

A - STRUCTURE DU PECTOROLIDE

. PECTOROLIDE 6 :

amorphe

$[\alpha]_D$ = +243° (c=1,05 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{24}O_6$

calculé %	C 65,50	H 6,94
trouvé %	65,36	6,83

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 217nm (ε=21300)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3415cm^{-1}	OH
1763, 1400 et 1150cm^{-1}	γ-lactone
1715cm^{-1}	ester
1655 et 1635cm^{-1}	>C=C<

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

$\Delta\varepsilon_{200nm}$ = -72,1
$\Delta\varepsilon_{220nm}$ = +84,0
$\Delta\varepsilon_{262nm}$ = -1,11

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 240MHz)

CH_3-19	1,99	s	élargi
H-7	3,20	m	
CH_2OH	4,41	d	(14)
	4,01	d	(14)
	4,29	d	(12)
	3,90	d	(12)
H-5	4,91	d	(9)
H-6, H-1	5,18	m	
H-8	5,55	t	(9)
H-18	5,72	s	élargi
H-18'	6,18	s	élargi
H-13	5,85	d	(3)
H-13'	6,33	d	(3,5)

	($CDCl_3$, 60MHz)	
H-7	3,17	tt (8,5 ; 3,5)
H-13	5,79	dd (3 ; 0,8)
H-13'	6,30	dd (3,5 ; 0,8)

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire ;

m/e = 330 (M-18) ; 317 (M-31) ; 244 (M-86-18) ;
231 (M-86-31) ; 226 (M-86-18-18) ; 69 et 41.

. DIACETYLPECTOROLIDE 14 :

60mg de pectorolide 6 sont dissous dans 5ml de pyridine ; 5ml d'anhydride acétique sont ajoutés et on abandonne 16h à température ambiante. Après addition de glace le produit est extrait au chloroforme, lavé à plusieurs reprises par une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium et ramené à neutralité par des lavages successifs à l'eau. La phase organique est séchée à l'aide de sulfate de sodium, filtrée et le solvant est évaporé. Le résidu (65mg) est ensuite chromatographié sur une colonne de 13g d'adsorbant. Les fractions 13 à 16, éluées par le mélange benzène/chloroforme (20/80), livrent 39mg de diacétylpectorolide 14 (rendement = 53%).

amorphe

$[\alpha]_D$ = +107° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{23}H_{28}O_8$; haute résolution sur le pic à m/e=373 ($M^{+\cdot}$-$OCOCH_3$)

calculé : 373,1651

trouvé : 373,1650

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 214nm (ε=24100)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1770cm^{-1}	γ-lactone
1745 ; 1240cm^{-1}	acétate
1720cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-19	1,96	m
CH_3COO	2,10	s
CH_3COO	3,13	m
CH_2OAc	4,60	s élargi (2H)
	4,36	dd (13 ; 1)
	4,64	dd (13 ; < à 1)
H-8, H-6, H-1, H-5	5,50 à 4,95	m
H-18	5,64	m
H-18'	6,12	m
H-13	5,74	dd (3 ; 1)
H-13'	6,28	dd (3,5 ; 1)

Spectre de masse :

m/e = 432 ($M^{+\cdot}$) ; 390 (M-42) ; 373 (M-59) ; 347 (M-85) ; 312 (M-60-60) ; 226 (M-86-60-60) ; 69 et 41.

REDUCTION PAR $NaBH_4$

. DIHYDROPECTOROLIDE 13 :

30mg de pectorolide 6 sont dissous dans 3ml de méthanol et 3,5ml de borohydrure de sodium sont ajoutés. Le mélange est abandonné 15mn à température ambiante. Après élimination du solvant, on ajoute de la glace, 2 gouttes d'acide acétique et on extrait au chloroforme. La solution chloroformique est ensuite traitée de manière habituelle. La réaction, répétée 3 fois, fournit 80mg de produit qui sont chromatographiés sur 16g d'adsorbant. Les fractions 40 à 48, éluées par le mélange chloroforme/acétone (92,5/7,5), sont réunies, soit 56mg de dihydropectorolide 13 (rendement = 62%).

amorphe

$[\alpha]_D$ = +148° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{26}O_6$

calculé %	C 65,12	H 7,48
trouvé %	64,94	7,46

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=10080)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3420cm^{-1}	OH
1780cm^{-1}	γ-lactone
1710cm^{-1}	ester
1640cm^{-1}	>C=C<

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

$\Delta\varepsilon_{220nm}$ = +22,7

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-13	1,40	d (6,5)
CH_3-19	1,96	s élargi
CH_2OH	3,94	d (14)
	4,33	d (14)
	3,87	d (12)
	4,26	d (12)
H-5	4,80	d (12)
H-6	5,11	dd (10 ; 8)
H-8	5,50	m
H-18	5,65	m
H-18'	6,14	m

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire

m/e = 332 (M-18) ; 319 (M-31) ; 264 (M-86) ;
246 (M-18-86) ; 233 (M-31-86) ; 69 et 41.

. DIOL 19 DERIVE DU VERNOLIDE :

La réaction précédente, répétée trois fois sur 35mg de vernolide 1, livre 93mg de produit qui sont chromatographiés sur 6g d'adsorbant. Les fractions 42 à 52 éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,8/1,2) fournissent 72mg du diol 19 (rendement = 68%).

F = 136-138° (benzène/chloroforme)

$[\alpha]_D$ = +111° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{26}O_7$

calculé %	C 62,28	H 7,15
trouvé %	62,05	7,26

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=12800)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3400cm^{-1}	OH
1770cm^{-1}	γ-lactone
1705cm^{-1}	ester
1630cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-13	1,38	d (6,5)
CH_3-19	1,97	s élargi
CH_2OH	3,67	d (12)
	3,82	d (12)
	4,11	d (14)
	4,44	d (14)
H-6	5,12	dd (10 ; 8)
H-5	5,32	d (10)
H-8	5,55	m
H-18	5,67	m
H-18'	6,13	m

Spectre de masse :

m/e = 366 ($M^{+\cdot}$) ; 348 (M-18) ; 335 (M-31) ;
330 (M-18-18) ; 280 (M-86) ; 69 et 41.

EPOXYDATION

. DIEPOXYPECTOROLIDE 15 :

A 80mg de pectorolide 6, en solution dans 16ml de chloroforme, sont ajoutés 120mg d'acide para-nitroperbenzoïque. Le mélange est agité 72h à température ambiante, puis noyé dans la glace et extrait au chloroforme. La solution chloroformique est lavée au bicarbonate de sodium, puis à l'eau jusqu'à neutralité et séchée sur sulfate de sodium. Le résidu obtenu après évaporation (80mg) est chromatographié sur 16g d'adsorbant.

Les fractions 44 à 52, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,6/1,4), sont réunies, soit 49mg de diépoxypectorolide 15 (rendement = 56%).

F = 183-185° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = -28° (c=0,40 ; dioxanne)

Analyse : $C_{19}H_{24}O_8$

calculé %	C 59,99	H 6,36
trouvé %	59,72	6,26

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 210nm (ε=15600)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3450cm^{-1}	OH
1775cm^{-1}	γ-lactone
1720cm^{-1}	ester
1640cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$ + 2 gouttes de pyridine d_5, 60MHz)

CH_3-19	1,98	s	élargi
H-1	2,75	m	
H-5	3,02	d	(9,5)
H-7	3,15	m	
CH_2OH	3,85	s	élargi (2H)
	3,91	d	(13)
	4,06	d	(13)
H-6	4,94	dd	(8 et 9,5)
H-8	5,20	m	
H-13	5,69	d	(3)
H-13'	6,30	d	(3,5)
H-18	5,58	m	
H-18'	6,05	m	

Spectre de masse :

m/e = 380 ($M^{+\cdot}$) ; 362 (M-18) ; 349 (M-31) ;
276 (M-86-18) ; 263 (M-86-31) ; 69 et 41.

. MONOEPOXY-DIOL 20 DERIVE DU VERNOLIDE :

A 125mg du diol 19, en solution dans 15ml de chloroforme, sont ajoutés 130mg d'acide paranitroperbenzoïque. Le mélange est agité 72h à température ambiante, puis extrait de la manière habituelle. Le résidu (110mg) est chromatographié sur 22g d'adsorbant. Les fractions 51 à 59, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,5/1,5), sont réunies, soit 70mg de monoépoxy-diol 20 (rendement = 54%).

F = 188-189° (chloroforme/acétone)

$[\alpha]_D$ = -33° (c=1 ; dioxanne)

Analyse : $C_{19}H_{26}O_8$

calculé %	C 59,67	H 6,85
trouvé %	59,91	7,07

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 211nm (ε=10500)

Spectre I.R. : (nujol)

3450cm^{-1}	OH
1765cm^{-1}	γ-lactone
1710cm^{-1}	ester
1635cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$ + 3 gouttes de pyridine d_5, 90MHz)

CH_3-13	1,37	d	(6,5)
CH_3-19	1,95	s	élargi
H-5	3,02	d	(9)
CH_2OH	3,98	s	élargi (2H)
	3,91	d	(12)
	4,09	d	(12)
H-6	4,77	t	(9)
H-8	5,48	m	
H-18	5,62	m	
H-18'	6,13	s	élargi

Spectre de masse :

m/e = 382 ($M^{+\cdot}$) ; 351 (M-31) ; 278 (M-18-86) ; 265 (M-86-31) ; 69 et 41.

EPOXYDATION DU DIHYDROPECTOROLIDE 13

A 70mg du dihydropectorolide 13 dissous dans 8ml de chloroforme, on ajoute 70mg d'acide para-nitroperbenzoïque. Le mélange est agité 72h à température ambiante, puis extrait de la manière habituelle. Le résidu obtenu (65mg) est chromatographié sur 14g d'adsorbant. Les fractions 26 à 28, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,7/1,3), fournissent 8mg de monoépoxydihydropectorolide 19 (rendement = 11%) identique au diol 19 dérivé du vernolide décrit page 99. Les fractions 38 à 45, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,6/1,4), fournissent 32mg de diépoxydihydropectorolide 20 (rendement = 41%) identique au monoépoxydiol 20 dérivé du vernolide décrit page 102.

HYDROGENATION DU PECTOROLIDE

200mg de pectorolide 6 sont dissous dans 10ml d'acide acétique et agités sous atmosphère d'hydrogène en présence de 200mg de PtO_2 à température et à pression ambiantes, pendant 18h. Après filtration de la solution, l'acide acétique est éliminé sous vide et le résidu est dissous dans le chloroforme, lavé avec une solution de bicarbonate de sodium, ramené à neutralité et séché. Le solvant est éliminé et le résidu (170mg) est chromatographié sur une colonne de 34g d'adsorbant confectionnée dans le benzène. Les fractions 10 et 11, éluées par le mélange chloroforme/acétone (98/2), sont réunies, soit 50mg d'un mélange de perhydropectorolide 16 (rendement = 27%). Les fractions 17 à 19, éluées par le mélange chloroforme/acétone (90/10), livrent 39mg du monohydroxyperhydropectorolide 17 (rendement = 20%) et les fractions 30 à 33, éluées par le mélange chloroforme/acétone/méthanol (87/10/3), livrent 20mg du dihydroxyperhydropectorolide 18 (rendement = 8%).

. PERHYDROPECTOROLIDE 16

La chromatographie en phase aqueuse met en évidence 4 isomères : 16a, 16b, 16c et 16d (figure page 24). Une seconde

chromatographie sur une colonne de 20g d'adsorbant, confectionnée dans l'hexane, permet d'isoler les deux isomères principaux.

. Isomère 16b (fractions 18 à 25 éluées par le mélange hexane/benzène (30/70))

F = 110-114° (oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +80° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{32}O_4$

calculé %	C 70,33	H 9,94
trouvé %	70,16	9,94

Spectre I.R. : (chloroforme)

1770cm^{-1}	γ-lactone
1730cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-	1,02	d	(6,5)
CH_3-	1,12	d	(6)
CH_3-	1,25	d	(7)
$(C\underline{H}_3)_2CH$	1,18	d	(7)
H-6,H-8	4,36 et 4,83	m	

Spectre de masse :

m/e = 324 ($M^{+\cdot}$) ; 281 (M-43) ; 236 (M-88) ; 71 et 43.

. Isomère 16d (fractions 41 à 44, éluées par le mélange hexane/benzène (30/70))

F = 55-60° (oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +65° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{32}O_4$

calculé %	C 70,33	H 9,94
trouvé %	70,43	9,79

Spectre I.R. : (chloroforme)

1770cm^{-1}	γ-lactone
1720cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-	0,91	d	(6)
CH_3-	1,00	d	(6)
CH_3-	1,14	d	(7)
$(CH_3)_2CH$	1,20	d	(7)
H-6, H-8	4,60-5,20	m	

Spectre de masse :

m/e = 324 ($M^{+\cdot}$) ; 281 (M-43) ; 236 (M-88) ; 71 et 43.

. MONOHYDROXYPERHYDROPECTOROLIDE 17

Mélange amorphe

Analyse : $C_{19}H_{32}O_5$

calculé %	C 67,03	H 9,47	
trouvé %	66,88	9,68	

Spectre I.R. : (chloroforme)

3500 cm^{-1}	OH
1775 cm^{-1}	Υ-lactone
1735 cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-	massif conplexe entre 0,8 et 1,20
CH_2OH	2s élargi à 3,44 et 3,52
H-6, H-8	m de 4,50 à 0,15

Spectre de masse :

m/e = 340 ($M^{+\cdot}$) ; 322 (M-18) ; 297 (M-43) ; 279 (M-43-18) ; 269 (M-71) ; 252 (M-88) ; 71 et 43.

. DIHYDROXYPERHYDROPECTOROLIDE 18

Mélange amorphe

Analyse : $C_{19}H_{32}O_6$

calculé %	C 64,38	H 8,53	
trouvé %	64,09	8,50	

Spectre I.R. : (chloroforme)

3620, 3495cm^{-1}	OH
1775cm^{-1}	γ-lactone
1730cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

$C\underline{H}_3$-	1,00	d	(7)
$(C\underline{H}_3)_2CH$	1,20	d	(7)
$C\underline{H}_2OH$	3,55	s	élargi
	3,70	s	élargi
H-6, H-8	4,60 à 5,20	m	

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire

m/e = 338 (M-18) ; 322 (M-18-15) ; 268 (M-88) ; 250 (M-88-18) ; 71 et 43.

B - STRUCTURE DU VERNOPECTOLIDE-A

. VERNOPECTOLIDE-A 7

amorphe

$[\alpha]_D$ = +78° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{21}H_{26}O_8$

calculé %	C 62,06	H 6,45
trouvé %	62,33	6,21

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 211nm (ε=24200)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3500cm^{-1}	OH
1765cm^{-1}	γ-lactone
1740-1720cm^{-1}	ester et acétate
1650cm^{-1}	>C=C<
1635cm^{-1}	>C=C<
1240cm^{-1}	acétate

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

$\Delta\varepsilon_{217nm}$ = +40

$\Delta\varepsilon_{260nm}$ = -1,06

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-19	1,97	s élargi
CH_3COO	2,09	s
H-7	3,12	tdd (9 ; 3,5 ; 4)
CH_2OH	4,25	d (14)
	4,10	d (14)
CH_2OAc	4,60	d (12)
	4,43	d (12)
H-5	4,94	d (10)
H-6, H-8	5,10-5,30	m
H-13	5,78	d (3,5)
H-13'	6,32	d (4)
H-18	5,68	t (2)
H-18'	6,15	m

	(DMSO d_6, 240MHz)	
CH_3-19	1,97	s élargi
CH_3COO	2,09	s
H-7	3,40	m
CH_2OH	4,13	dd (14 ; 6)
	3,91	dd (14 ; 6)
CH_2OAc	4,66	d (12)
	4,43	d (12)
H-5	5,10	d (10)
H-6, H-8	5,30-5,45	m
H-13	5,87	d (3,5)
H-18	5,77	m
H-13', H-18'	6,20	m

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire

m/e = 346 (M-60) ; 328 (M-60-18) ; 320 (M-86) ; 315 (M-86-31) ; 260 (M-86-60) ; 242 (M-86-60-18) ; 69 et 41.

OXYDATION PAR MnO_2

15mg de vernopectolide-A 7 sont dissous dans 4ml de chloroforme ; 160mg de dioxyde de manganèse sont ajoutés et on agite 20mn à température ambiante. Après filtration, sur une colonne de célite, on obtient 14mg de l'aldéhyde 22 (rendement = 95%).

. ALDEHYDE 22

amorphe

$[\alpha]_D$ = +112° (c=1,18 ; chloroforme)

Analyse : $C_{21}H_{24}O_8$

calculé %	C 62,37	H 5,98
trouvé %	62,13	6,13

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 214nm (ε=23300), épaulement à 235nm (ε=11600)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1775cm^{-1}	γ-lactone
1745 ; 1240 cm^{-1}	acétate
1725cm^{-1}	ester
1685cm^{-1}	aldéhyde
1640cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-19	1,96	m
CH_3COO	2,08	s
H-7	3,15	m
CH_2OAc	4,46	d (14)
	4,22	d (14)
H-6	5,12	dd (10 ; 7)
H-8	5,25-5,10	m
H-5	6,03	d (10)
H-18	5,67	m
H-18'	6,14	m
H-13	5,82	dd (3 ; <1)
H-13'	6,36	dd (3,5 ; < 1)
H-C=O	10,00	s élargi

Spectre de masse :

m/e = 404 ($M^{+\cdot}$) ; 388 (M-16) ; 359 (M-16-29) ; 346 (M-16-42) ; 302 (M-16-86) ; 260 (M-16-86-42) ; 242 (M-16-86-60) ; 231 (M-16-86-42-29) ; 213 (M-16-86-60-29) ; 69 et 41.

ACETYLATION

. ACETYLVERNOPECTOLIDE-A 23

50mg de vernopectolide-A 7 sont dissous dans 0,5ml de pyridine ; 0,5ml d'anhydride acétique sont ajoutés et on abandonne pendant 16h à température ambiante. Après extraction de manière habituelle, le résidu (36mg) est chromatographié sur 5,2g d'adsorbant. Les fractions 10 et 11, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (99,4/0,6) fournissent 32mg de monoacétylvernopectolide-A 23 (rendement = 58%).

amorphe

$[\alpha]_D$ = +123° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{23}H_{28}O_9$

calculé %	C 61,60	H 6,29
trouvé %	61,45	6,25

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 213nm (ε=23000)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1780cm^{-1}	γ-lactone
1745 épaulement à 1730cm^{-1}	ester et acétates
1645cm^{-1}	>C=C<
1240cm^{-1}	acétates

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-19	1,96	m
CH_3COO	2,10	s
	2,14	s
H-7	3,15	tt élargi (3 à 3,5 ; 8)
$C\underline{H}_2OAc$	4,62	s élargi
$C\underline{H}_2OAc$	4,68	d (13)
	4,37	d (13)
H-8, H-6, H-5	5,45-5,00	m
H-18	5,68	t (2)
H-18'	6,16	m
H-13	5,77	dd (3 ; < 1)
H-13'	6,33	dd (3,5 ; < 1)

Spectre de masse :

m/e = 449 (M^++1) ; 373 (M+1-16-60) ; 347 (M+1-16-86) ; 329 (M+1-16-60-44) ; 313 (M+1-60-60) ; 245 (M+1-16-60-42-86) ; 227 (M-16-60-60-86) et 69.

. DIACETATE 24 DERIVE DU VERNOLIDE :

104mg du diol 19 sont dissous dans 1ml de pyridine ; 1ml d'anhydride acétique est ajouté et on abandonne 16h à température ambiante. Après extraction de manière habituelle, le résidu (120mg) est chromatographié sur 18g d'adsorbant. Les fractions 12 et 13, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (99,4/0,6), fournissent 110mg de diacétate 24 (rendement = 83%).

F = 143-145° (chloroforme)

$[\alpha]_D$ = +67° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{23}H_{30}O_9$

calculé %	C 61,32	H 6,71
trouvé %	61,36	6,86

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=13900)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1780cm^{-1}	γ-lactone
1745-1725cm^{-1} (large bande)	ester et acétates
1745cm^{-1}	>C=C<
1240cm^{-1} (large bande)	acétates

Spectre de R.M.N. : $CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-13	1,36	d	(6,5)
CH_3-19	1,96	m	
CH_3COO	2,14	s	
	2,12	s	
CH_2OAc	4,76	s	élargi
CH_2OAc	4,37	d	(13)
	3,82	d	(13)
H-8, H-6, H-5	5,60-4,90	m	
H-18	5,67	t	(1,5)
H-18'	6,12	m	

Spectre de masse :

m/e = 451 (M^++1) ; 435 (M^++1-16) ; 391 (M+1-60) ; 342 (M+1-16-86) ; 289 (M+1-16-60-86) et 69.

REDUCTION PAR $NaBH_4$

20mg d'acétylvernopectolide-A 23 sont dissous dans 0,25ml de méthanol et 3mg de borohydrure de sodium sont ajoutés. Le mélange est abandonné 20mn à température ambiante, puis extrait de manière habituelle. Les 18mg de produit obtenu sont chromatographiés sur 3g d'adsorbant. Les fractions 6 à 8, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (99,4/0,6), livrent 13mg de dihydromonoacétylvernopectolide-A (rendement = 65%) identique au diacétate 24 décrit à la page précédente.

C - STRUCTURE DU VERNOPECTOLIDE-B

. VERNOPECTOLIDE-B 8 :

amorphe

$[\alpha]_D$ = +93° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{22}O_6$

calculé %	C 65,88	H 6,40
trouvé %	65,59	6,05

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 207nm (ε=23100), épaulement à 235nm (ε=8100)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3500cm^{-1}	OH
1772cm^{-1}	γ-lactone
1715cm^{-1}	ester
1695cm^{-1}	aldéhyde
1640cm^{-1}	>C=C<

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

$\Delta\varepsilon_{318nm}$ = +5,04
$\Delta\varepsilon_{265nm}$ = -1,63
$\Delta\varepsilon_{232nm}$ = -48,2

(+) à plus courte longueur d'onde

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 240MHz)

OH	1,28	s	disparaît par deutériation
CH_3-19	2,03	s	élargi
H-3	2,00	m	partiellement confondu avec CH_3
H-2	2,40	ddd (13 ; 7 ; 6)	
H-2', H-9	2,57	m	
H-3'	2,72	dd (13 ; 6)	
H-7	2,94	m	recouvert par H-9'
H-9'	2,88	dd (16 ; 6)	
CH_2OH	4,32	s	élargi

H-6	4,93	dd (10,5 ; 9)
H-5	5,18	d (10,5)
H-8	5,26	m
H-13	5,75	d (3)
H-18	5,75	m
H-13'	6,23	d (3,5)
H-18'	6,32	m
H-1	6,60	td (7 ; 1)
H-CO	9,58	d (1)

Spectre de masse :

m/e = 346 ($M^{+\cdot}$) ; 260 (M-86) ; 242 (M-86-18) ; 213 (M-86-18-29) ; 69 et 41.

REDUCTION PAR $NaBH_4$

. PECTOROLIDE 6 et DIHYDROPECTOROLIDE 13

25mg de vernopectorolide-B 8 sont réduits par 3mg de borohydrure de sodium dans les conditions précédemment décrites. La réaction, répétée 2 fois, fournit 43mg de produit qui sont chromatographiés sur 8,6g d'adsorbant.

La fraction 6, éluée par le mélange chloroforme/méthanol (98,8/1,2), livre 2mg de produit identifié au pectorolide 6 par chromatographie sur couche mince et spectrométrie de masse.

Les fractions 9 à 13, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,8/1,2), livrent 31mg de dihydropectorolide 13 (rendement = 62%) identique à un échantillon authentique ($[\alpha]_D$, I.R., spectres de R.M.N. et masse, chromatographie sur couche mince).

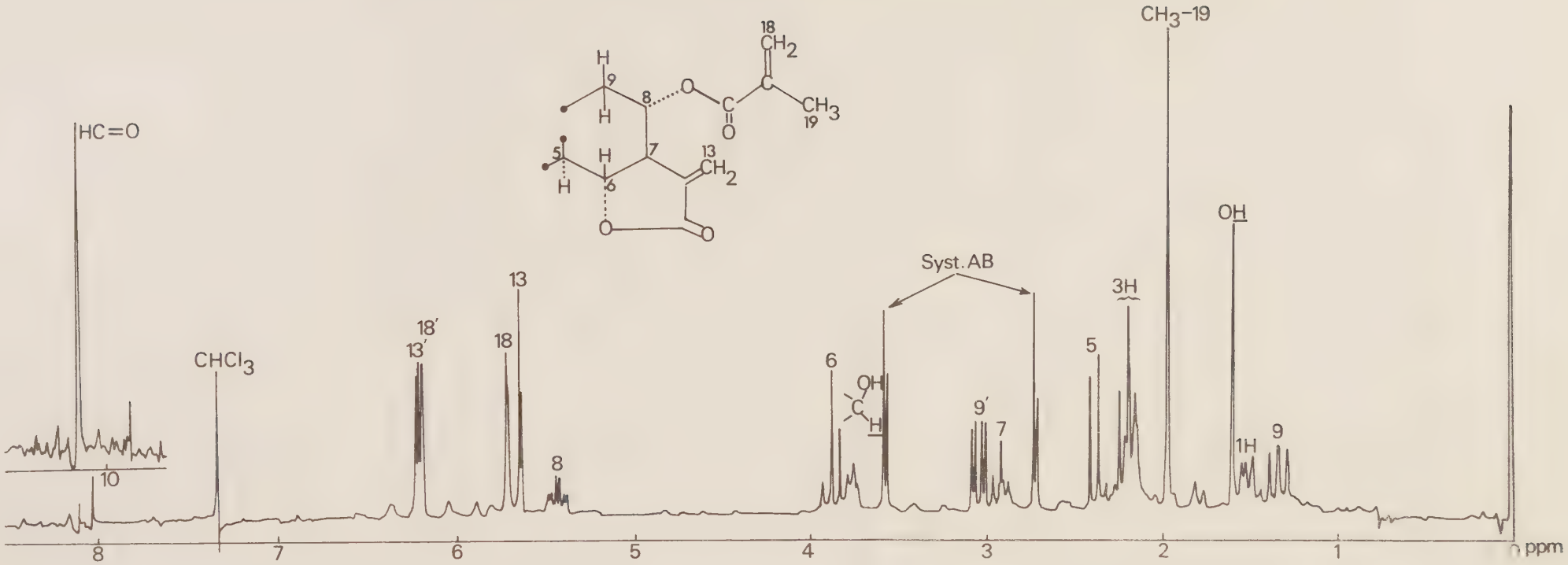


FIGURE XX : Spectre de R.M.N. du vernopectolide-C (240MHz, $CDCl_3$)

D - STRUCTURE DU VERNOPECTOROLIDE-C

. VERNOPECTOROLIDE-C 21

amorphe

$[\alpha]_D$ = +76° (c=0,74 ; chloroforme)

Formule brute : $C_{19}H_{22}O_8$ ($M^{+\cdot}$ = 378)

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 213nm (ε=21900)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600-3530cm^{-1}	OH
2880-2750-1720cm^{-1}	aldéhyde
1775cm^{-1}	γ-lactone
1730cm^{-1}	ester
1640cm^{-1}	insaturation

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

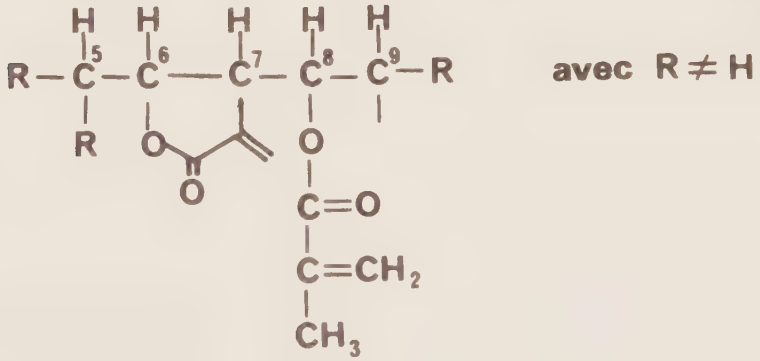
$\Delta\varepsilon_{320nm}$ = +0,49
$\Delta\varepsilon_{260nm}$ = -0,44
$\Delta\varepsilon_{238nm}$ = -1,38

Spectre de R.M.N. : ($CHCl_3$, 240MHz)

1) ester α-méthyle acrylique

CH_3-19	1,97	s
H-18	5,57	s élargi
H-18'	6,12	s élargi

2) enchaînement suivant montré par découplage



avec R ≠ H

H-5	2,36	d (10)
H-6	3,87	t (10)
H-7	2,91	tt (10 ; 3)

H-8	5,37	td (10 ; 10 ; 4)
H-9	3,03	dd (12 ; 4)
H-9'	1,31	dd (12 ; 10)

3) autres fonctions

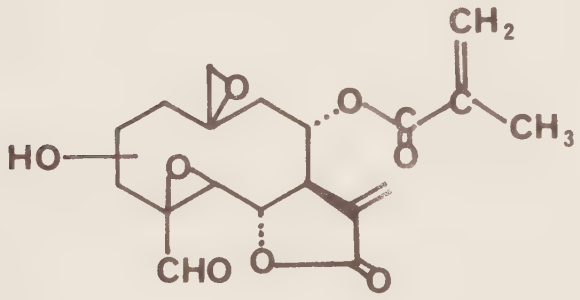
H-C=O	10,19	s
H-C-OH	3,74	m
HO-	1,62	s disparaît par deutériation

système AB qui peut être de type $>C\overset{O}{-}CH_2$

	3,57	d (4)
	2,71	d (4)
un massif de 3H à	2,20	m
un proton à	1,55	m

Spectre de masse :

m/e : 378 ($M^{+\cdot}$) ; 360 (M-18) ; 349 (M-29) ; 347 (M-31) ; 292 (M^+-86) ; 263 (M^+-86-29) ; 261 (M-86-31) ; 69 et 41.



Formule supposée

E - STRUCTURE DU VERNODESMINE

. VERNODESMINE 9 :

F = 190-194° (acétone/chloroforme)

$[\alpha]_D$ = +27° (c=0,58 ; acétone)

Analyse : $C_{25}H_{28}O_7$

calculé %	C 68,17	H 6,41
trouvé %	68,18	6,43

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 210nm (ε=31300)
λmax = 252nm (ε=500)
λmax = 257nm (ε=480)

Spectre I.R. : (nujol)

3560 ; 3460cm^{-1}	OH
1745cm^{-1}	γ-lactone
1725cm^{-1}	ester
1635cm^{-1}	>C=C<
750 ; 700cm^{-1}	benzène monosubstitué

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$ + pyridine d_6, 240MHz)

H-9	1,39	dd (10 ; 14,5)
CH_3-19	1,95	s élargi
H-5	2,32	d (10)
H-7	2,77	td (10 ; 3)
H-9'	2,91	dd (14,5 ; 5,5)
H-1	3,83	m
H-15	4,09	d (11,5)
H-15'	4,80	d (11,5)
H-6	5,06	t (10)
H-13	5,40	d (2,5)
H-14	5,49	d (4) (s après deutériation)
H-18	5,62	s élargi
H-8	5,83	td (10 ; 5,5)

H-13'	5,91	d (3)
H-18'	6,08	s élargi
phényle	7,15-7,35	(5H) m
OH	8,42	d (4) disparaît par deutériation
	(DMSO d_6, 240MHz)	
H-9	1,33	dd (10 ; 14,5)
CH_3-19	2,02	s élargi
H-9'	2,48	dd (14,5 ; 5,5)
H-5	2,62	d recouvert par DMSO
H-7	3,07	td (10 et ~3)
H-1	3,72	m
H-15	4,10	d (11,5)
H-15'	4,60	d (11,5)
H-6	4,92	t (10)
H-14	5,23	s
H-13	5,50	d (~3)
H-8	5,65	m
H-18	5,92	s élargi
H-13'	5,98	d (~3)
H-18'	6,20	s élargi
phényle	7,25-7,50	(5H) m

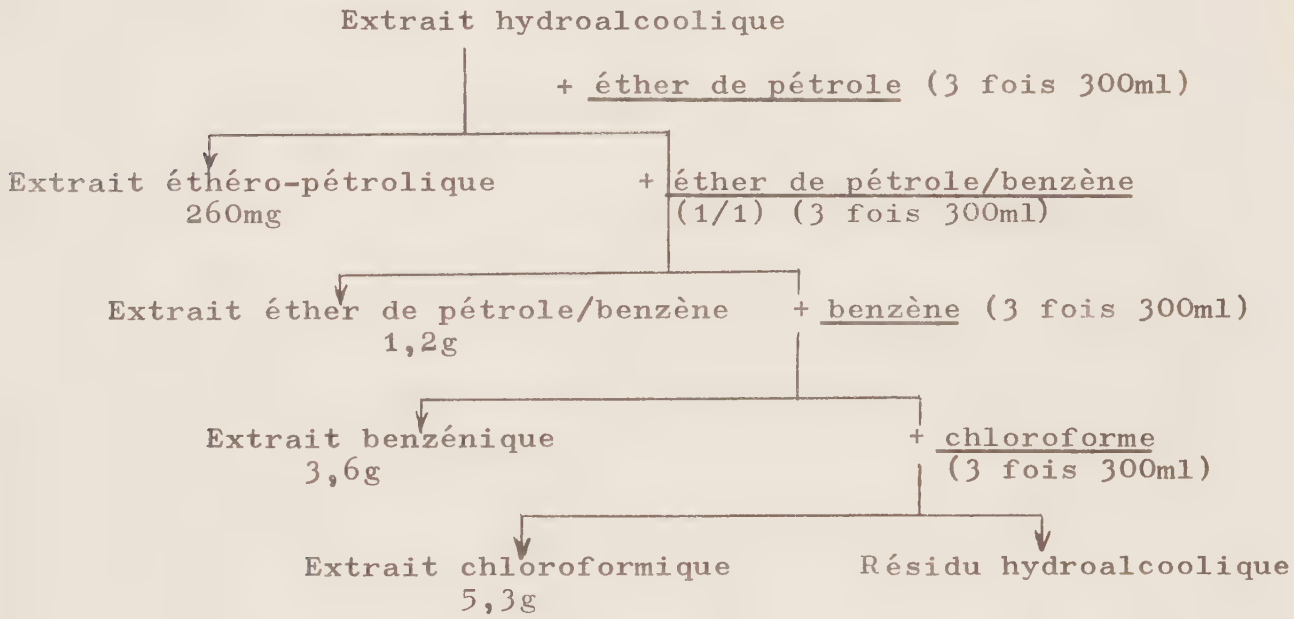
Spectre de masse :

m/e = 440 ($M^{+\cdot}$) ; 422 (M-18) ; 336 (M-18-86) ; 318 (M-18-18-86) ; 69 et 41.

C H A P I T R E I I

EXTRACTION DU VERNONIA GUINEENSIS Benth.

500g de feuilles broyées de Vernonia guineensis Benth. sont délipidées à l'éther de pétrole puis extraites au chloroforme. Le résidu chloroformique (23,6g) est dissous dans 150ml d'éthanol et 150ml d'eau à 60°C sont progressivement ajoutés ; 1g de charbon végétal est additionné et le mélange est agité pendant quelques heures. Après filtration, la partie hydroalcoolique est concentrée sous vide et successivement épuisée à l'éther de pétrole, à l'éther de pétrole/benzène (1/1), au benzène et au chloroforme.



Chacun des trois derniers extraits, soumis à l'analyse par chromatographie sur couche mince, révèle la présence prépondérante de vernodaline 10 et on enregistre un enrichissement progressif en vernolepine 11 dans les deux derniers extraits. Les chromatographies respectives de chacun des extraits confirment cette observation (Tableau XV, page suivante).

Plusieurs extractions, accomplies dans les mêmes conditions, démontrent la constance dans les rendements des deux élémanolides - 0,96% du poids de la plante sèche pour le vernodaline 10 et 0,10% pour le vernolépine 11.

PURIFICATIONS DU VERNODALINE 10 ET DU VERNOLEPINE 11

1g de produit brut est chromatographié sur une colonne de 150g d'adsorbant confectionnée dans l'hexane. Le mélange chloroforme/acétone (93/7) élue le vernodéline 10, puis le mélange chloroforme/acétone/méthanol (89,4/10/0,6) élue le vernolépine 11.

Avant utilisation, les produits sont chromatographiés une seconde fois dans les mêmes conditions ; le vernolépine est cristallisé et l'homogénéité du vernodaline amorphe est vérifiée sur couche mince (2 migrations dans le mélange chloroforme/acétone/méthanol 80/15/5).

TABLEAU XV

Nature et poids des différents extraits	Quantités de produits obtenus après 2 chromatographies de 1g des différents extraits	
	Vernodaline 10	Vernolépine 11
Ether de pétrole/benzène 1,2g	750	-
Benzène 3,6g	500	35
Chloroforme 5,3g	400	80

. VERNODALINE 10 :

amorphe

$[\alpha]_D$ = +124° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{20}O_7$

calculé %	C 63,33	H 5,59
trouvé %	62,92	5,64

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=21200)

Spectre I.R. : (KBr)

3450cm^{-1}	OH
1780cm^{-1}	γ-lactone
1725cm^{-1}	δ-lactone et ester
1630cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

H-9	1,66	dd	(10 ; 14,5)
H-9'	2,28	dd	(5 ; 14,5)
H-7	3,00	tt	(3 ; 11)
H-5	3,05	d	(11)
H-14	4,00	d	(11,5)
H-14'	4,59	d	(11,5)
CH_2OH	4,37	s	élargi
OH	2,40	m	disparaît par deutériation
H-6	4,40	m	confondu avec CH_2OH et H-14'
H-8	5,20	m	confondu avec H-2 et H-2'
H-1	5,78	m	(10 ; 18)
H-2, H-2'	5,32		
H-13	5,67	d	(3)
H-18, H-3	5,97	m	
H-13'	6,22	d	(3)
H-18'	6,31	m	
H-3'	6,74	s	élargi

Spectre de masse :

m/e = 360 ($M^{+\cdot}$) ; 276 (M-84) ; 258 (M-102) ;
246 (M-84-30) ; 228 (M-102-30) ; 85 et 57.

· VERNOLEPINE 11 :

F = 182-184° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +77° (c=0,49 ; acétone)

Analyse : $C_{15}H_{16}O_5$

calculé %	C 65,21	H 5,84
trouvé %	65,44	5,78

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=18100)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 ; 3450cm^{-1}	OH
1775cm^{-1}	γ-lactone
1725cm^{-1}	δ-lactone
1625cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz) ·

H-9	1,64	dd (10 ; 14,5)
H-9'	2,02	dd (5 ; 14,5)
H-7	2,80	tt (3 ; 11)
H-5	2,97	d élargi (11 ; <1)
H-14	3,84	d (12)
H-14'	4,46	d (12)
OH	2,50	disparaît par deutériation
H-6, H-8	3,75-4,40	m
H-1	5,78	m (10 ; 18)
H-2, H-2'	5,30	
H-3	5,91	t (<1)
H-13	6,02	d (3 ; 0,5)
H-13'	6,20	d (3 ; 0,5)
H-3'	6,70	t (1)

Spectre de masse :

m/e = 276 ($M^{+\cdot}$) ; 258 (M-18) ; 246 (M-30) et 228 (M-30-18).

REDUCTION DU VERNODALINE PAR $NaBH_4$

45mg de vernodaline 10 sont dissous dans 0,6ml de méthanol et 4mg de borohydrure de sodium sont ajoutés. Le mélange est abandonné pendant 15mn à -5°C. Après élimination du solvant, addition d'eau glacée et de quelques gouttes d'acide acétique, on extrait au chloroforme. La solution chloroformique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, puis séchée et évaporée. La réaction répétée trois fois fournit 120mg de produit qui, chromatographiés sur 21g d'adsorbant, livrent 64mg de tétrahydrovernodaline 28, élués par le mélange chloroforme/acétone (90/10), 7mg d'hexahydrovernodaline 29 élués par le mélange chloroforme/acétone (90/10) et 24mg du dérivé 30 élués par le mélange chloroforme/acétone/méthanol (89,9/10/0,1).

. TETRAHYDROVERNODALINE 28

amorphe

$[\alpha]_D$ = +79° (c=1,19 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{24}O_7$

calculé %	C 62,62	H 6,64
trouvé %	62,44	6,58

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 208nm (ε=6400)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600cm^{-1}		OH
1790cm^{-1}		γ-lactone
1745cm^{-1}	(large bande)	δ-lactone et ester
1640cm^{-1}		>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-13	1,26	d	(7)
CH_3-3	1,43	d	(7)
H-14	3,94	d	(11)
H-6	4,22	m	
CH_2OH	4,27	s	élargi
H-14'	4,40	d	(11)

H-8	5,12	m	
H-1	5,85	m	(19 ; 8,5 ; 1)
H-2, H-2'	5,28		
H-18	5,92	s	élargi
H-18'	6,23	s	élargi

Spectre de masse :

m/e = 364 ($M^{+\cdot}$) ; 346 (M-18) ; 334 (M-30) ;
262 (M-102) ; 232 (M-102-30) ; 85 et 57.

. HEXAHYDROVERNODALINE 29

amorphe

$[\alpha]_D$ = +72° (c=0,55 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{26}O_7$

calculé %	C 62,28	H 7,15
trouvé %	62,30	7,10

Spectre U.V. : (éthanol)

pas de bande d'absorption

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 et 3500cm^{-1}	OH
1790cm^{-1}	γ-lactone
1740cm^{-1} (large bande)	δ-lactone et ester
1640cm^{-1} (faible bande)	>C=C<

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-3	1,41	d	(7)
CH_3-13	1,28	d	(7)
CH_3-18	1,20	d	(7)
H-1	5,86	m	(18 ; 9 ; 1)
H-2, H-2'	5,20		

Spectre de masse :

m/e = 366 ($M^{+\cdot}$) ; 348 (M-18) ; 336 (M-30) ;
279 (M-87) ; 262 (M-104) ; 232 (M-104-30) ;
87 et 59.

DERIVE D'ADDITION 30 :

F = 110-113° (chloroforme/hexane)

$[\alpha]_D$ = +55° (c=0,51 ; chloroforme)

Analyse : $C_{20}H_{26}O_8$

	C	H
calculé %	60,90	6,64
trouvé %	60,38	6,93

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax 206nm (ε=19300)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600 ; 3450cm^{-1}	OH
1730cm^{-1} (large bande)	esters et δ-lactone
1632cm^{-1}	>C=C<

Spectre de R.M.N. : $CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-3	1,41	d	(7)
CH_3-O	3,78	s	
CH_2-14	4,14	d	(12)
	4,60	d	(12)
H-1	5,76	m	(18 ; 9 ; 1)
H-2, H-2'	5,24		
CH_2OH	4,24	s	élargi
H-13	5,80	m	
H-13'	6,14	m	
H-18	5,76	m	
H-18'	6,36	s	élargi

Spectre de masse :

m/e = 394 ($M^{+\cdot}$) ; 310 (M-84) ; 292 (M-102) ; 260 (M-102-32) ; 85 et 57.

HYDROGENATION DU VERNODALINE

1 - EN PRESENCE D'OXYDE DE PLATINE

L'agitation pendant 1h, sous atmosphère d'hydrogène de 120mg de vernodaline 10, dissous dans 20ml d'acide acétique, en présence de 120mg d'oxyde de platine, fournit après filtra-

tion et évaporation du solvant 108mg de produit qui, après chromatographie sur 22g d'adsorbant, livrent respectivement 65mg de désoxooctahydrovernodaline 27 élués par le mélange benzène/chloroforme (55/45) et 13mg d'octahydrovernodaline 34 élués par le mélange chloroforme/acétone (90/10).

2 - EN PRESENCE DE PALLADIUM

160mg de vernodaline 10, dissous dans 15ml d'acétate d'éthyle sont agités sous atmosphère d'hydrogène en présence de 80mg de palladium sur carbonate de strontium à 5%, à température et à pression ambiantes, pendant 15mn. Après filtration, et évaporation du solvant, le mélange réactionnel (120mg) est chromatographié sur 30g d'adsorbant. Les fractions 14 à 17 livrent 6mg de déoxooctahydrovernodaline 27 (benzène/chloroforme 40/60) ; les fractions 22 à 27 livrent 39mg de l'hexahydrovernodaline 35 (benzène/chloroforme 20/80) ; les fractions 38 à 43 livrent 24mg d'octahydrovernodaline 34a (chloroforme/acétone 97/3) et les fractions 49 à 53 livrent 32mg d'octahydrovernodaline isomère 34b (chloroforme/acétone 96/4).

. DESOXOOCTAHYDROVERNODALINE 27 :

F = 170-174° (chloroforme-hexane)

$[\alpha]_D$ = +49° (c=1 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{28}O_6$

calculé %	C 63,75	H 8,01
trouvé %	63,70	7,86

Spectre I.R. : (chloroforme)

1785cm^{-1}	γ-lactone
1730cm^{-1}	δ-lactone et ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-3	1,40	d	(7)
CH_3-13	1,26	d	(7)
$(CH_3)_2$-CH	1,18	d	(7)
CH_3-CH_2	0,95	t	(7)
H-8	5,00	m	

Spectre de masse :

m/e = 352 ($M^{+\cdot}$) ; 322 (M-30) ; 308 (M-44) ;
281 (M-71) ; 264 (M-88) ; 234 (M-88-30) ;
87 et 71.

. HEXAHYDROVERNODALINE 35

F = 140-145° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +53° (c=0,4 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{26}O_7$

calculé %	C 62,28	H 7,15
trouvé %	61,99	6,92

Spectre U.V. : éthanol)

λmax = 212mn (ε=6950)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3500cm^{-1}	OH
1785cm^{-1}	γ-lactone
1740cm^{-1}	δ-lactone
1730cm^{-1}	ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-CH_2	0,95	t	(7)
CH_3-3	1,42	d	(7)
CH_3-13	1,27	d	(7)
H-8	5,10	m	
H-14, H-14' CH_2OH, H-6	3,80-3,40	m	
H-18	5,95	m	
H-18'	6,15	m	

Spectre de masse :

m/e = 366 ($M^{+\cdot}$) ; 336 (M-30) ; 312 (M-44) ;
281 (M-85) ; 265 (M-101) ; 85 et 57.

. OCTAHYDROVERNODALINE 34

1 - ISOMERE LE MOINS RETENU SUR COUCHE MINCE 34a

F = 197-199° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = -12° (c=0,5 ; acétone)

Analyse : $C_{19}H_{28}O_7$

calculé %	C	61,94	H 7,66
trouvé %		61,49	7,57

Spectre I.R. : (chloroforme)

3620cm^{-1}	OH
1785cm^{-1}	γ-lactone
1745 et épaulement à 1740cm^{-1}	δ-lactone et ester

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

CH_3-CH_2	0,92	t	(7)
CH_3-18	1,18	d	(7)
CH_3-13*	1,24	d	(7)
CH_3-3*	1,34	d	(7)
H-8	5,20	m	

Spectre de masse :

m/e = 368 ($M^{+\cdot}$) ; 338 (M-30) ; 324 (M-44) ; 281 (M-87) ; 264 (M-104) ; 220 (M-104-44) ; 87 et 59.

2 - ISOMERE LE PLUS RETENU SUR COUCHE MINCE 34b

F = 163-165° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +87° (c=1 ; acétone)

Analyse : $C_{19}H_{28}O_7$

calculé %	C	61,94	H 7,66
trouvé %		61,76	7,55

Spectre I.R. : (chloroforme)

3600cm^{-1}	OH
1780cm^{-1}	γ-lactone
1735cm^{-1}	δ-lactone et ester

* Non rigoureusement attribués, peuvent être interchangés.

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 60MHz)

$\underline{CH_3}$-CH_2	0,92	t (7)
CH_3-18	1,18	d (7)
CH_3-13	1,28	d (7)
CH_3-3	1,40	d (7)
H-8	5,00	m

Spectre de masse :

m/e = 368 ($M^{+\cdot}$) ; 338 (M-30) ; 324 (M-44) ; 281 (M-87) ; 264 (M-104) ; 220 (M-104-44) ; 87 et 59.

ACETYLATION DU VERNOLEPINE

20mg de vernolépine **11** sont dissous dans 0,1ml de pyridine ; 0,02ml d'anhydride acétique sont ajoutés et on abandonne pendant 6h à la température ambiante. Puis le solvant est éliminé sous vide et le produit est chromatographié sur 2g d'adsorbant. Les fractions 29 à 35, éluées par le mélange chloroforme/acétone (97/3) sont réunies : soit 14mg du dérivé acétylé **36** (rendement = 54%).

F = 145-147° (chloroforme/oxyde d'isopropyle)

$[\alpha]_D$ = +130° (c=0,40 ; chloroforme)

Analyse : $C_{17}H_{18}O_6$

calculé %	C 64,14	H 5,70
trouvé %	63,92	5,88

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 211nm (ε=19000)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1780cm^{-1}	γ-lactone
1745 ; 1735cm^{-1}	δ-lactone et ester
1625cm^{-1}	>C=C<
1240cm^{-1}	acétate

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 90MHz)

H-9	1,60	dd	(10 ; 14)
H-9'	2,15	m	partiellement recouvert par CH_3COO
CH_3COO	2,12	s	
H-7	2,90	m	
H-5	3,00	d	élargi (11)
H-6	4,02	t	(11)
H-14	4,20	dd	(12 ; 1,5)
H-14'	4,50	d	(12)
H-8	5,05	m	partiellement recouvert par H-2 et H-2'
H-1	5,75	m	(18 ; 10)
H-2, H-2'	5,26		
H-13	5,62	d	(3)
H-3	5,90	s	élargi
H-13'	6,20	d	(3)
H-3'	6,75	s	élargi

Spectre de masse

absence de pic moléculaire

m/e = 288 (M-30) ; 276 (M-42) ; 258 (M-60) ;
246 (M-42-30) et 228 (M-60-30).

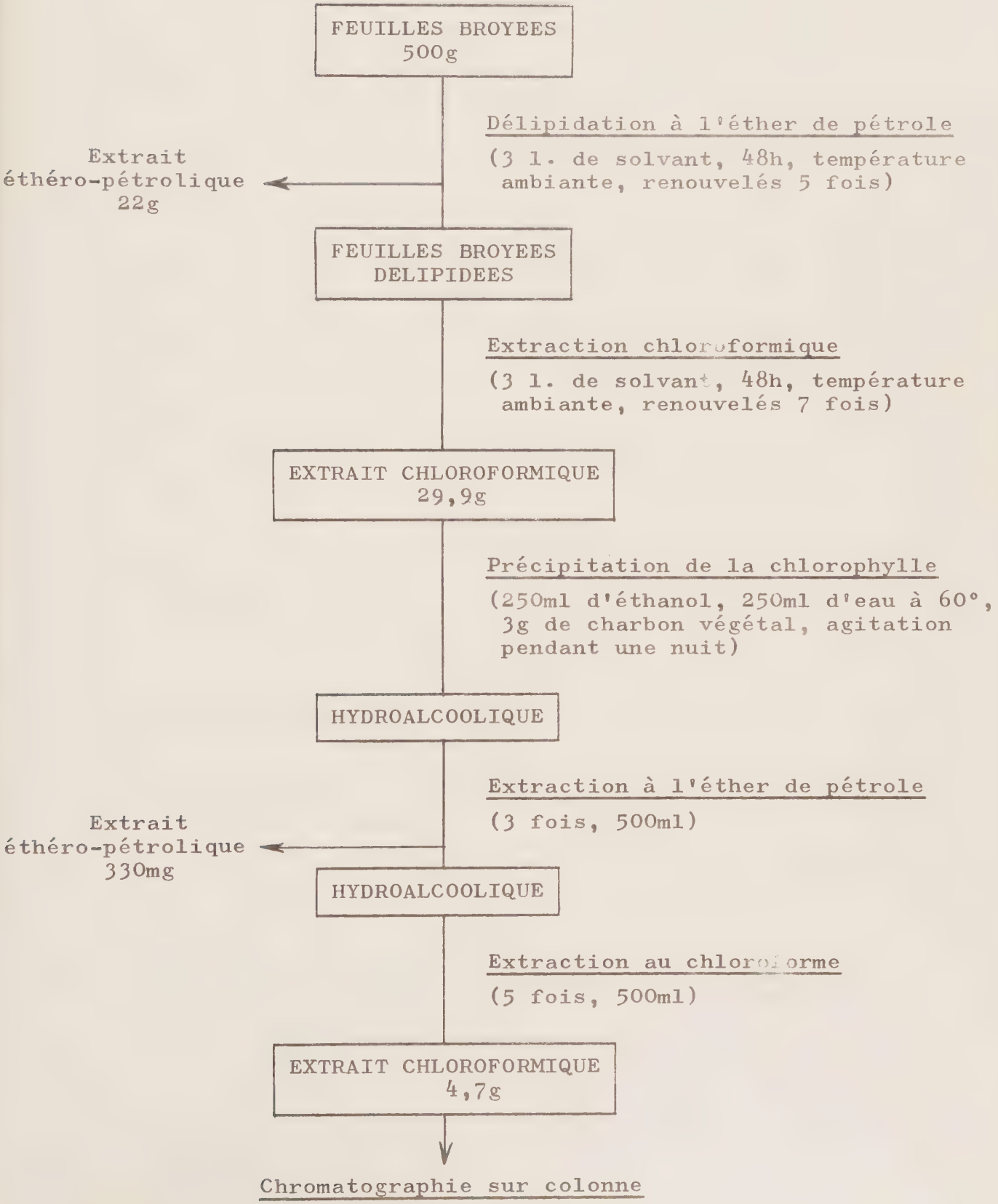
Vernodaline 10	
$C_{19}H_{20}O_7$, produit amorphe	Littérature (91), produit amorphe
$[\alpha]_D$=+124°, (c=1 ; chloroforme)	$[\alpha]_D$=+125° (c=1 ; chloroforme)
Spectre de R.M.N. superposable à celui d'un échantillon authentique	
Octahydrovernodaline 34a	
$C_{19}H_{28}O_7$, F=163-165°	Littérature (91), F=160-162°
$[\alpha]_D$=+87° (c=1 ; acétone)	$[\alpha]_D$=+90° (c=0,51 ; acétone)
Désoxooctahydrovernodaline 27	
$C_{19}H_{28}O_6$, F=170-174°	F=170-171°(90) ; 174-175°(89)
$[\alpha]_D$=+49° (c=1 ; chloroforme)	$[\alpha]_D$ absent dans (89) et (90)
Vernolépine 11	
$C_{15}H_{16}O_5$, F=182-184°	F=181-182°(88) ; 179-180° (89)
$[\alpha]_D$=+77° (c=0,49 ; acétone)	$[\alpha]_D$=+72° (c=1,04 ; acétone)
Point de fusion de mélange sans dépression	
Acétate du vernolépine 36	
$C_{17}H_{18}O_6$, F=145-147°	F=146-147°
$[\alpha]_D$=+130° (c=0,40 ; chloroforme)	$[\alpha]_D$=+131° (c=0,89 ; chloroforme) (89)

TABLEAU XVI

Bilan comparatif avec les données de la littérature.

C H A P I T R E I I I

EXTRACTION DU VERNONIA SUBLUTEA SCOTT ELLIOT



PURIFICATION DU SUBLUTEOLIDE 12

Elle est accomplie par trois chromatographies successives sur colonne :

. 1g de l'extrait chloroformique est chromatographié sur une colonne de 150g d'adsorbant confectionnée dans l'hexane. Le mélange chloroforme/acétone/méthanol (89,8/10/0,2) élue 470mg d'un mélange riche en sublutéolide.

. Une seconde chromatographie de ce mélange effectuée dans les mêmes conditions livre 230mg de sublutéolide.

. Avant utilisation, le sublutéolide est chromatographié une troisième fois. 170mg de sublutéolide sont ainsi obtenus dont l'homogénéité est mise en évidence par chromatographie sur couche mince [trois migrations successives dans le mélange chloroforme/acétone (4/1)].

. SUBLUTEOLIDE 12

amorphe

$[\alpha]_D$= +54° (c=0,9 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{22}O_7$

calculé %	C 62,97	H 6,12
trouvé %	61,84	5,81

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 213nm (ε=9600)

Spectre I.R. : chloroforme)

3600 ; 3450cm^{-1}	OH
1765 ; 1660cm^{-1}	γ-lactone α,β insaturée
1740cm^{-1}	ester
1640cm^{-1}	>C=C<

Spectre de dichroïsme circulaire : (méthanol)

$\Delta\varepsilon_{225nm}$ = -6,52

$\Delta\varepsilon_{264nm}$ = -0,33

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 240MHz)

H-1	3,40	m recouvert par H-18'
H-2	1,86	ddd (14 ; 4,5 ; 9,5)
H-2'	2,48	ddd (7 ; 9 ; 14)
H-3	4,00	dd (4,5 ; 7)
H-5	2,08	dd (11 ; 9)
H-6	4,62	dd (11 ; 9)
H-7	3,12	m recouvert par H-15
H-8	5,04	ddd (10 ; 3 ; 5)
H-9	2,34	dd (14 ; 3)
H-9'	2,80	dd (14 ; 5)
H-13	5,72	d (3)
H-13'	6,25	d (3,5)
H-14	4,96	s élargi
H-14'	5,19	s élargi
H-15	3,08	d (4,5)
H-15'	3,34	d (4,5)
H-18	2,84	d (6)
H-18'	3,20	d (6)
CH_3-19	1,64	s

Spectre de R.M.N. du ^{13}C : ($CDCl_3$)

C-12, C-16	170,0 et 168,9	s
C-10, C-11	141,4 et 136,6	s
C-13, C-14	123,2 et 118,4	t
C-3, C-6, C-8	75,9, 75,6 et 75,1	d
C-17, C-4	68,2 et 53,7	s
C-7	52,8	d
C-1, C-5	47,7 et 45,4	d
C-15, C-4	52,8 et 48,3	t
C-9, C-2	37,6 et 36,5	t
C-19	17,2	q

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire

m/e = 331 (M-31) ; 260 (M-102) ; 242 (M-102-18) ; et 57.

Ionisation chimique : (isobutane ; appareil MS 9)

m/e = 363 (M^++1) ; 261 (M+1-102) ; 243 (M+1-102-18).

ACETYLATION DU SUBLUTEOLIDE

60mg de sublutéolide 12 sont dissous dans 1ml de pyridine ; 1ml d'anhydride acétique est ajouté et on abandonne 16h à température ambiante. Après extraction de manière habituelle, on obtient 43mg d'acétylsublutéolide 37 (rendement = 65%).

amorphe

$[\alpha]_D$ = +56° (c=0,66 ; chloroforme)

Analyse : $C_{21}H_{24}O_8$

calculé %	C 62,37	H 5,98
trouvé	62,06	5,92

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 213nm (ε=7800)

Spectre I.R. : (chloroforme)

1775, 1660cm^{-1}	γ-lactone α,β insaturée
1740cm^{-1}	ester et acétate
1640cm^{-1}	>C=C<
1240cm^{-1}	acétate

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 240MHz)

H-1	3,45	ddd (9,5 ; 9 ; 9)
H-2	1,87	ddd (9,5 ; 14 ; 4,5)
H-2'	2,65	ddd (9 ; 14 ; 7)
H-3	5,03	m recouvert par H-14
H-5	2,08	m recouvert par -$OCOCH_3$
H-6	4,47	dd (12 ; 9)
H-7	3,12	m
H-8	5,12	m
H-9	2,46	dd (14 ; 2)
H-9'	2,75	dd (14 ; 5,5)
H-13	5,83	d (3,5)
H-13'	6,35	d (4)
H-14	5,03	s élargi

H-14'	5,28	s	élargi
H-15	3,08	d	(4,5)
H-15'	3,37	d	(4,5)
H-18	2,90	d	(6)
H-18'	3,23	d	(6)
CH_3-19	1,66	s	élargi
CH_3COO	2,12	s	

Spectre de masse :

m/e = 404 ($M^{+\cdot}$) ; 362 (M-42) ; 344 (M-60) ; 302 (M-102) ; 260 (M-102-42) ; 242 (M-102-60) et 57.

REARRANGEMENT SUR COLONNE DE L'ACETYLSUBLUTEOLIDE

40mg d'acétylsublutéolide 37 sont chromatographiés sur une colonne de 8g d'adsorbant confectionnée dans l'hexane. Les fractions 43 et 44, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (99/1), fournissent 32mg du dérivé réarrangé 39 (rendement = 78%).

F = 122-125° (chloroforme)

$[\alpha]_D$ = +24° (c=0,5 ; chloroforme)

Analyse : $C_{21}H_{26}O_9$

calculé %	C 59,71	H 6,20
trouvé	59,82	6,58

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 211nm (ε=7400)

Spectre I.R. : (chloroforme)

3550cm^{-1}	OH
1785cm^{-1}	γ-lactone
1740cm^{-1}	ester et acétate
1640cm^{-1}	≻C=C≺
1240cm^{-1}	acétate

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$, 240MHz)

H-3	3,87	ddd (10 ; 8 ; 7,5) dd (10 ; 8) après deutériation
H-5	2,41	t (11)
H-6	4,42	dd (11 ; 9)
H-7	3,12	m recouvert par H-18'
H-8	4,87	m
H-9'	2,88	dd (14 ; 5)
H-13	5,87	d (3)
H-13'	6,27	d (3,5)
H-14	5,08	s élargi
H-14'	5,16	s élargi
H-15	4,13	d (11)
H-15'	4,35	d (11)
H-18	2,84	d (6)
H-18'	3,16	d (6)
CH_3-19	1,60	s élargi
CH_3COO	2,17	s
OH	2,77	d (7,5) } disparaît par
	3,00	s } deutériation
	($DMSO\ d_6$, 240MHz)	
H-3	3,78	m
H-5	2,40	t (11)
H-6	4,43	dd (11 ; 10)
H-8	4,85	m
H-13	5,87	d (3)
H-13'	6,19	d (3,5)
H-14	4,95	s élargi
H-14'	5,07	s élargi
CH_2OAc	syst. AB	d à 3,97 et 3,88 (12)
H-18	2,90	d (6)
H-18'	3,05	d (6)
CH_3-19	1,50	s
CH_3COO	1,99	s
OH	4,33	s disparaît par deutériation
	4,95	d (5) disparaît par deutériation

Spectre de masse :

m/e = 422 ($M^{+\cdot}$) ; 404 (M-18) ; 391 (M-31) ; 380 (M-42) ; 362 (M-60) ; 349 (M-42-31) ; 344 (M-60-18) ; 320 (M-102) ; 302 (M-102-18) ; 260 (M-102-60) ; 242 (M-102-60-18) et 57.

. DICHLORHYDRINE 38

33mg de sublutéolide 12 sont dissous dans 2,5ml de méthanol anhydre. Après barbotage d'acide chlorhydrique gazeux pendant 5mn, le mélange réactionnel est abandonné pendant 30mn à température ambiante. Le solvant est évaporé et le résidu est extrait par le chloroforme de manière habituelle. Le produit obtenu (40mg) est chromatographié sur une colonne de 8g confectionnée dans le chloroforme. Les fractions 22 à 25, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98,9/1,1), livrent 32mg de la dichlorhydrine 38 (rendement = 80%).

amorphe

$[\alpha]_D$ = +57° (c=0,83 ; chloroforme)

Analyse : $C_{19}H_{24}O_7Cl_2$

calculé	%	C	52,45	H 5,54
trouvé	%		52,24	5,62

Spectre U.V. : (éthanol)

λmax = 212nm (ε=7000)

Spectre I.R. : (sans solvant, ni nujol)

3500cm^{-1}	(large bande)	OH
1735-1780cm^{-1}	(large bande)	ester, acétate et γ-lactone
1665 ; 1645cm^{-1}		>C=C<
760cm^{-1}		-C-Cl

Spectre de R.M.N. : ($CDCl_3$ + D_2O, 240MHz)

H-1	3,63	m
H-3	4,20	d élargi (7)
H-5	2,35	t (11)
H-6	4,87	dd (9 ; 11)

H-7	3,17	tt (9 ; 3,5)
H-8	5,22	m recouvert par H-14'
H-9	2,50	dd (13 ; 1)
H-9'	2,70	dd (13 ; 4,5)
H-13	5,90	d (3,5)
H-13'	6,32	d (3,5)
H-14	4,87	s élargi
H-14'	5,20	s élargi
CH_2Cl	syst. AB 2d à 3,68 et 3,83 (11)	
	syst. AB 2d à 4,00 et 4,38 (12)	
CH_3-19	1,60	s

Spectre de masse :

absence de pic moléculaire

m/e = 400 et 398 (M-HCl) ; 298 et 296 (M-138) ;
280 et 278 (M-138-18) ; 93 et 91.

BIBLIOGRAPHIE

(1) . R. TOUBIANA et A. GAUDEMER,
Tetrahedron Letters, 1133 (1967).

. C.M. HO et R. TOUBIANA,
Tetrahedron, 26, 941 (1970).

. C. PASCARD,
Tetrahedron Letters, 4131 (1970).

. C.M. HO,
Thèse Doctorat d'Université, Structure du vernolide, Orsay N° 166 (1974).

(2) . R. TOUBIANA,
C.R. Acad. Sc. Paris, 268C, 82 (1969).

(3) . W. TEMPLETON,
The Chemistry of Terpenoids and steroids, 71,
Butterworths, Londres (1969).

(4) . A. SOMASEKAR RAO, G.R. KELKAR et S.C. BHATTACHARYYA,
Tetrahedron, 9, 275 (1960).

(5) . R.K. BENTLEY, J.G. St C. BUCHANAN, T.G. HALSALL et V. THALLER,
Chem. Comm., 435 (1970).

(6) . W. RENOLD, H. YOSHIOKA et T.J. MABRY,
J. Org. Chem., 35, 4264 (1970).

(7) . T.G. WADDELL et T.A. GEISSMAN,
Phytochemistry, 8, 2371 (1969).

(8) . M. SUCHY, L. DOLEJS, V. HEROUT, F. SORM, G. SNATZKE et J. HIMMELREICH,
Coll. Czech. Chem. Comm., 27, 2654 (1962).

(9) . J.B. HENDRICKSON,
Tetrahedron, 7, 82 (1959).

(10) . J.S. ROBERTS,
Chemistry of terpenes and terpenoids, 88 (Ed. par A.A. Newman), Academic Press, London and New-York (1972).

(11) . V. HEROUT,
Chemotaxonomy of the family Compositae (Asteraceae), in Pharmacognosy and phytochemistry, 64 (Ed. par H. Wagner et L. Hörhammer), Springer, Berlin, Heidelberg, New-York (1971).

(12) . D. OLIVIER et B. HIERN,
Flora of Tropical Africa, III, L. Reeve and Co., London (1877).

(13) . A. DE CANDELL,
Prodromus, V (1836).

(14) . O. HOFFMANN,
Natürlichen Pflanzenfamilien de Engler et Prantl, IV, Abt. 5 (1897).

(15) . H. HUMBERT,
Flore de Madagascar et des Comores, I, Ed. par Muséum d'Histoire Naturelle, Paris (1960).

(16) . J. HUTCHINSON et J.M. DALZIEL,
Flora of West Tropical Africa, II, 2ème édition, 277, (Ed. par F.N. Hepper), the Whitefriars Press, Ltd., London (1963).

(17) . R. PERNET et G. MEYER,
Pharmacopée de Madagascar, Ed. par Institut de Recherche Scientifique de Tananative-Tsimbazaza (1957).

(18) . E. HECKEL,
Les plantes utiles de Madagascar, Challamel, Paris (1910).

(19) . J.M. DALZIEL,
The Useful Plants of West Tropical Africa, Crown Agents, London (1955).

(20) . A. BOUQUET,
Féticheurs et Médecines Traditionnelles du Congo (Brazzaville), O.R.S.T.O.M., Paris (1969).

(21) . G.H. STOUT et L.H. JENSEN,
X ray structure determination, Macmillan (1968).

(22) . P. LASZLO et P.S. STANG,
Spectroscopic organique : principes et applications, Hermann, Paris (1972).

. J. EMSLEY, J. FEENEY et L. SUTCLIFFE,
High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, I, Pergamon Press, Oxford (1965).

(23) . L.M. JACKMAN et S. STERNELL,
Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 2ème éd., Pergamon Press, Oxford (1969).

. R. BIBLE Jr.,
Guide to the N.M.R. Empirical Method, Plenum Press, New-York (1969).

. N.S. BHACCA et D.H. WILLIAMS,
Applications of N.M.R. Spectroscopy in Organic Chemistry, Holden-Day, San Francisco (1964).

(24) . J. PARELLO,
Bull. Soc. Chim. Fr., 2033 (1964).

. P. GONORD, C. DURET et S.K. KAN,
C. R. Acad. Sc., Paris, 278 (B), 123 (1974).

(25) . G. MOREAU,
Bull. Soc. Chim. Fr., 1770 (1969).

. J. NOGGLE et R.E. SCHIRMER,
The Nuclear Overhauser Effect : Chemical application,
Academic Press, New-York and London (1971).

. G.E. BACHERS et T. SCHAEFER,
Chemical Reviews, 71 (1971).

(26) . T.C. FARRAR et E.D. BECKER,
Pulse and Fourier Transform N.M.R.,
Academic Press, New-York (1971).

. E. BREITMAIER, G. JUNG et W. VOELTER,
Angew. Chem. Edit. Internat., 10, 673 (1971).

(27) . M.D. SAUZADE et S.K. KAN,
Advances in Electronics and Electron Physics,
34, 1 (1973).

. P. GONORD, C. DURET, C. VIBET, J. SALSET et S.K. KAN,
Rev. Sci. Instrum., 44, 1725 (1973).

(28) . C. DURET, P. GONORD et S.K. KAN,
C. R. Acad. Sc. Paris, 278 (B), 791 (1974).

(29) . E. BRETT-MAIER et W. VOELTER,
^{13}C N.M.R. Spectroscopy, Monographs in Modern
Chemistry, Verlag Chemie (1974).

. G.C. LEVY et G.L. NELSON,
Carbon-13 N.M.R. for Organic Chemistry,
Wiley-Interscience (1972).

(30) . N.S. BHACCA, F. WEHRLI et N.H. FISCHER,
J. Org. Chem., 38, 3618 (1973).

. N.S. BHACCA, R. WILLEY, N.H. FISCHER et F. WEHRLI,
Chem. Comm., 614 (1973).

. P. PREGOSIN, E. RANDALL et T. Mc MURRY,
J. Chem. Soc. (Perkin I), 299 (1972).

. K. NAKANISHI, R. CROUCH, I. MIURA, X. DOMINGUEZ,
A. ZAMUDIO et R. VILLARREAL,
J. Amer. Chem. Soc., 96, 609 (1974).

(31) . R.N. SATHE, G.H. KULKARNI et G.R. KELKAR,
Chem. and Ind., London, 448 (1968).

. N. WASADA, T. TSUCHIYA, E. JOSHII et E. WATANABE
Tetrahedron, 23, 4623 (1967).

(31) . H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI et D.H. WILLIAMS, Mass Spectrometry of Organic Compounds, 206, Holden-Day, San Francisco (1967).

. S.M. KUPCHAN, J.M. CASSADY, J.E. KELSEY, H.K. SCHNOES, D.H. SMITH et A.L. BURLINGAME, J. Amer. Chem. Soc., 88, 5292 (1966).

. L. TSAI, R.J. HIGHET et W. HERZ, J. Org. Chem. 34, 945 (1969).

(32) . W. STÖCKLIN, T.G. WADDELL et T.A. GEISSMAN, Tetrahedron, 26, 2397 (1970).

(33) . F. SORM et L. DOLEJS, Guaïanolides et germacranolides, Hermann, Paris (1965).

(34) . D. ROGERS, G.P. MOSS et S. NEIDLE, Chem. Comm., 142 (1973).

(35) . S.M. KUPCHAN, J.E. KELSEY et G.A. SIM, Tetrahedron Letters, 2863 (1967).

(36) . B. MOMPON, C.M. HO et R. TOUBIANA, C.R. Acad. Sc. Paris, 276 (C), 1799 (1973).

(37) . K. NAKANISHI, Infrared Absorption Spectroscopy, 45, Holden-Day, San Francisco et Tokyo (1962).

. Y. KASHMAN, D. LAVIE et E. GLOTTER, Israel J. Chem., 5, 23 (1967).

. W. HERZ et S.V. BHAT, J. Org. Chem., 35, 2605 (1970).

(38) . N.B. COLTHUP, L.H. DALY et S.E. WIBERLEY, Introduction of Infrared and Raman Spectroscopy, 248, Academic Press, New-York et Londres (1964).

(39) . W. HERZ et S.V. BHAT, J. Org. Chem., 37, 6 (1972).

(40) . A.I. SCOTT, Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products, 235, Pergamon Press, New-York et Londres (1964).

(41) . H. YOSHIOKA, T.J. MABRY et A. HIGO, J. Amer. Chem. Soc., 92, 923 (1970).
. T.R. GOVINDACHARI, B.S. JOSHI et V.N. KAMAT, Tetrahedron, 21, 1509 (1965).

(42) . S.M. KUPCHAN, Y. AYNEHCHI, J.M. CASSADY, H.K. SCHNOES et A.L. BURLINGAME, J. Org. Chem., 34, 3867 (1969).

(43) . S.J. TORRANCE, T.A. GEISSMAN et M.R. CHEDEKEL, Phytochemistry, 8, 2381 (1969).

(44) . N.H. FISCHER, T.J. MABRY et H.B. KAGAN,
Tetrahedron, 24, 4091 (1968).

(45) . L.M. JACKMAN et S. STERNELL,
Applications of Nuclear Magnetic Resonance
Spectroscopy in Organic Chemistry, 2ème éd.,
186, Pergamon Press, Oxford (1969).

. H. YOSHIOKA et T.J. MABRY,
Tetrahedron, 27, 3317 (1971).

(46) . Z. SAMEK,
Tetrahedron Letters, 671 (1970).

. G.P. NEWSOROFF et S. STERNHELL,
Aust. J. Chem., 25, 1669 (1972).

(47) . M. SUCHY, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 32, 3934 (1967).

. M. SUCHY, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 33, 2238 (1968).

(48) . S.B. KADIN,
J. Org. Chem., 31, 620 (1966).

. N. DUFORT et E. FLAMAND,
Canad. J. Chem., 46, 1073 (1968).

(49) . J. BOTTIN, O. EISENSTEIN, C. MINOT et NGÛYEN TRONG ANH,
Tetrahedron Letters, 3015 (1972).

. K. IQBAL et W.R. JACKSON,
J. Chem. Soc. (C), 616 (1968).

. W.R. JACKSON et A. ZURKIYAH,
J. Chem. Soc., 5280 (1965).

(50) . P.L. SOUTHWICK, N. LATIF, B. FITZGERALD et N.M. SACZEH,
J. Org. Chem., 31, 1 (1966).

(51) . S.M. KUPCHAN, M. MARUXAMA, R.J. HEMINGWAY,
J.C. HEMINGWAY, S. SHIBUYA et T. FUJITA,
J. Org. Chem., 38, 2189 (1973).

(52) . M. MOUSSERON-CANET, M. MOUSSERON et C. LEVALLOIS,
Bull. Soc. Chim. Fr., 376 (1963).

(53) . B. DROZDZ, Z. SAMEK, M. HOLUB et V. HEROUT,
Coll. Czech. Chem. Comm., 38, 727 (1973).

. M. SUCHY, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 32, 3934 (1967).

. M. SUCHY, L. DOLEJS, V. HEROUT, F. SORM,
G. SNATZKE et J. HIMMELREICH,
Coll. Czech. Chem. Comm., 34, 229 (1969).

(54) . M. SUCHY, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 33, 2238 (1968).

(55) . B. DROZDZ, M. HOLUB, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 33, 1730 (1968).

(56) . W. RENOLD, H. YOSHIOKA et T.J. MABRY,
J. Org. Chem., 35, 4264 (1970).

(57) . W. HERZ et S.V. BHAT,
J. Org. Chem., 37, 906 (1972).

. E.R. ALEXANDER,
Principles of Ionic, Org. Reactions,
27, John Wiley, New-York (1950).

(58) . M. MEHRA, K. DESHPANDE, B. GHATGE et P.C. BHATTACHARYYA,
Tetrahedron, 23, 2469 (1967).

. K. NAEMURA, M. NAKASAKI,
Tetrahedron Letters, 1 (1969).

(59) . T.A. GEISSMAN et T.S. GRIFFIN,
Phytochemistry, 11, 833 (1972).

(60) . E. ALI, P.P. GHOSCH-DASTIDAR, S.C. PAKRASHI,
L.J. DURHAM et A.M. DUFFIELD,
Tetrahedron, 28, 2285 (1972).

. Z. SAMEK,
Tetrahedron Letters, 1709 (1971).

(61) . M. SUCHY, V. HEROUT et F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 31, 2899 (1966).

(62) . M.A. IRWIN, T.A. GEISSMAN,
Phytochemistry, 12, 875 (1973).

. M. SUCHY, V. HEROUT, F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 31, 2899 (1966).

. T.A. GEISSMAN, A.J. LUCAS, T. SAITOH et W.W. PAYNE,
Biochemical Systematics, 1, 13 (1973).

(63) . H. YOSHIOKA, T.J. MABRY, B.N. TIMMERMANN,
Sesquiterpene Lactones, 20, University of
Tokyo Press (1973).

. W. PARKER, J.S. ROBERT et R. RAMAGE,
Quart. Rev., 21, 331 (1967).

. R.J. Mc CLURE, G.A. SIM, P. COGGON, A.T. Mc PHAIL,
Chem. Comm., 128 (1970).

. P. WHARTON, Y.C. POON et H.C. KLUENDER,
J. Org. Chem., 38, 735 (1973).

(64) . F. SORM, M. SUCHY, H. HOLUB, A. LINEK,
I. HADINEC et C. NOVAK,
Tetrahedron Letters, 1893 (1970).

(64) . J.K. SUTHERLAND,
Tetrahedron, 30, 1651 (1974).

. K. TAKEDA,
Tetrahedron, 30, 1525 (1974).

. I. HORIBE, K. TORI, K. TAKEDA et T. OGINO,
Tetrahedron Letters, 735 (1973).

(65) . N.S. BHACCA et N.H. FISCHER,
Chem. Comm., 68 (1968).

. R.J. Mc CLURE, G.A. SIM, P. COGGON et A.T. Mc PHAIL,
Chem. Comm., 128 (1970).

. F.H. ALLEN et D. ROGERS,
Chem. Comm., 588 (1967).

. H. HIKINO, C. KONO et T. TAKEMOTO,
Chem. Comm., 662 (1969).

(66) . R.W. DOSKOTCH et F. EL-FERALY,
J. Org. Chem., 35, 1928 (1970).

(67) . M. SUCHY, L. DOLEJS, V. HEROUT, F. SORM,
G. SNATZKE et J. HIMMELREICH,
Coll. Czech. Chem. Comm., 34, 229 (1969).

. R.W. DOSKOTCH, S.L. KEELY Jr et C.D. HUFFORD,
Chem. Comm., 1137 (1972).

. H. TADA et K. TAKEDA,
Chem. Comm., 1391 (1971).

(68) . A. ROMO DE VIVAR, M. AGUILAR, H. YOSHIOKA,
A. HIGO, E. RODRIGUEZ, J.A. MEARS et T.J. MABRY,
Tetrahedron, 26, 2775 (1970).

(69) . O.L. CHAMPMA et R.W. KING,
J. Amer. Chem. Soc., 86, 1256 (1964).

(70) . W. HERZ, P.S. SUBRAMANIAM, P.S. SANTHANAM,
J. Org. Chem., 35, 1453 (1970).

(71) . A. GAUDEMER, J. POLONSKY, E. WENKERT,
Bull. Soc. Chim. Fr., 407 (1964).

(72) . C.M. HO,
Thèse Doctorat d'Université, N° 166,
Orsay, 82 (1974).

(73) . S.J. TORRANCE, T.A. GEISSMAN et M.R. CHELEKEL,
Phytochemistry, 8, 2381 (1969).

(74) . H.H. JAFFE et M. ORCHIM,
Theory and applications of Ultraviolet Spectroscopy,
212, 2ème edition, John Wiley and Sons, New-York,
London (1964).

(75) . K. NAKANISHI,
Infrared Absorption Spectroscopy, 43, 2eme edition, Holden Day, San Francisco et Tokyo (1964).

. G. MAGNUSON, S. THOREN et T. DRAKENBERG,
Tetrahedron, 29, 1621 (1973).

(76) . D.R. DAVIS, R.P. LUTZ et J.D. ROBERTS,
J. Amer. Chem. Soc., 83, 246 (1961).

(77) . W. HERZ, S.V. BHAT et V. SUDARSANAM,
Phytochemistry, 11, 1829 (1972).

(78) . T. YAMAGISHI, K. HAYASHI, M. MITSUHASHI, M. IMANARI et K. MATSUSHITA,
Tetrahedron Letters, 3527 (1973).

(79) . F. SHAFIZADEH et N.R. BHADANE,
J. Org. Chem., 37, 274 (1972).

(80) . W. HERZ, S.V. BHAT et V. SUDARSANAM,
Phytochemistry, 11, 1829 (1972).

(81) . N.B. COLTHUP, L.H. DALY et S.E. WIBERLEY,
Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, 220, Academic Press, New-York and London (1964).

(82) . H.H. JAFFE et M. ORCHIM,
Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy, 242, 2eme edition, John Wiley, London (1964).

(83) . L.M. JACKMAN et S. STERNHELL,
Applications of Nuclear Magnetic Nuclear Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 2eme edition, 295, Pergamon Press (1969).

. J.T. PINHEY et S. STERNHELL,
Aust. J. Chem., 18, 543 (1965).

(84) . L.M. et S. STERNELL,
Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 237, 2eme edition, Pergamon Press, Oxford (1969).

. N.S. BHACCA et D.H. WILLIAMS,
Applications of N.M.R. Spectroscopy in Organic Chemistry, 190, Holden Day, San Francisco (1964).

(85) . L. FONZES, C. LUCAS, A. PAVIA et F. WINTERMITZ,
Phytochemistry, 8, 1797 (1969).

. R.B. BATES et D.J. ECKERT,
J. Amer. Chem. Soc., 94, 8258 (1972).

(86) . A. GAUDEMER,
Thèse Doctorat d'Etat : structure de la glaucarubine et de la glaucarubinone, 50, Orsay (1965).

(87) . N.S. BHACCA, L.E. JOHNSON et I.N. SHOOLERY,
High resolution N.M.R. spectra catalog, spectre 61,
Copyright Varian associates (1962).

(88) . S.M. KUPCHAN, R.J. HEMINGWAY, D. WERNER,
A. KARIM, A.T. Mc PHAIL et G.A. SIM,
J. Amer. Chem. Soc., 90, 3596 (1968).

(89) . S.M. KUPCHAN, R.J. HEMINGWAY, D. WERNER et A. KARIM,
J. Org. Chem., 34, 3903 (1969).

(90) . A.T. Mc PHAIL et G.A. SIM,
J. Chem. Soc. (B), 198 (1971).

(91) . S.M. KUPCHAN, R.J. HEMINGWAY, A. KARIM et D. WERNER,
J. Org. Chem., 34, 3908 (1969).

(92) . L.J. BELLAMY,
The Infra-red Spectra of Complex Molecules,
Methuen, London, 179 (1962).

(93) . R.W. DOSKOTCH et F. EL-FERALY,
J. Org. Chem., 35, 1928 (1970).

(94) . M.A. IRWIN et T.A. GEISSMAN,
Phytochemistry, 8, 2411 (1969).

(95) . M.A. IRWIN,
Ph. D. Thesis, Los Angeles, Californie, 23 (1971).

. M.A. IRWIN et T.A. GEISSMAN,
Phytochemistry, 8, 2411 (1969).

(96) . T.J. MABRY, H.B. KAGAN et H.E. MILLER,
Tetrahedron, 22, 1943 (1968).

. W. HERZ, K. UEDA et S. INAYAMA,
Tetrahedron, 19, 483 (1963).

. W. HERZ. Y. KISHIDA et M.V. LAKSHMIKANTHAM,
Tetrahedron, 20, 979 (1964).

(97) . G.H. KULKARNI, A. PAUL, A. SOMASEKAR RAO,
G.R. KELKAR et S.C. BHATTACHARYYA,
Tetrahedron, 12, 178 (1961).

(98) . R. HODGES, R.C. CAMBIE et K.N. JOBLIN,
Org. Mass Spectrom., 3, 1473 (1970).

(99) . R.N. SATHE, G.H. KULKARNI, G.R. KELKAR et K.G. DAS,
Org. Mass Spectrom., 2. 935 (1969).

(100) . H. YOSHIOKA, T.J. MABRY, M.A. IRWIN, T.A. GEISSMAN
et Z. SAMEK,
Tetrahedron, 27, 3317 (1971).

. H. YOSHIOKA, T.J. MABRY et B.N. TIMMERMANN,
Sesquiterpene Lactones, Unervisity of Tokyo Press,
77 (1973).

(101) . B.J. MILLARD,
Org. Mass Spectrom., 1, 279 (1968).

(102) . G. URBACH, W. STARK et A. NOBUHARA,
Agr. Biol. Chem., 36, 1217 (1972).

(103) . K.B. WIBERG et B.J. NIST,
The interpretation of N.M.R. Spectra, 11,
W.A. Benjamin, Inc., New-York (1962).

(104) . L.M. JACKMAN et S. STERNELL,
Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
in Organic Chemistry, 278, 2eme edition, Pergamon Press,
Oxford (1969).

. S. CASTELLANO et J.S. WAUGH,
J. Chem. Physics, 37, 1951 (1962).

(105) . M. HOLUB, Z. SAMEK et V. HEROUT,
Phytochemistry, 11, 3053 (1972).

(106) . N.S. BHACCA et D.H. WILLIAMS,
Applications of N.M.R. Spectroscopy in Organic Chemistry,
85, Holden Day, San Francisco (1964).

(107) . B. MOMPON, G. MASSIOT et R. TOUBIANA,
C.R. Acad. Sc. Paris, 279C, 907 (1974).

(108) . F.H. FIELD,
Accounts of Chem. Res., 1, 42 (1968).

(109) . Z. SAMEK, M. HOLUB, B. DROZDZ, G. IOMMI,
A. CORDELLA et P. GARIBOLDI,
Tetrahedron Letters, 4775 (1971).

. A. ROMO DE VIVAR, A. CABRERA, A. ORTEGA et J. ROMO,
Tetrahedron, 23, 3903 (1967).

(110) . D.G. MARTIN, G. SLOMP, S. WIZSAK, D.J. DUCHAMP
et C.G. CHIDESTER,
Tetrahedron Letters, 4901 (1970).

. S. TAKAHASHI, H. IINUMA, T. TAKITA, K. MAEDA
et H. UMERAWA,
Tetrahedron Letters, 1637 (1970).

(111) . A.G. GONZALEZ, J. BERMEJO, J.L. BRETON et J. TRIANA,
Tetrahedron Letters, 2017 (1972).

(112) . D.H. WILLIAMS et I. FLEMING,
Spectroscopic methods in organic chemistry, 155,
2eme edition, Mc Graw Hill, London (1973).

(113) . G. RUCKER,
Angewandte Chem., Int. Ed., 10, 793 (1973).

(114) . K.H. LEE, S.H. KIM, H. FURUKAWA, C. PIANTADOSI
et E.S. HUANG,
J. Med. Chem., 18, 59 (1975).

(115) . S. JULIA et J.P. LAVAUX,
Bull. Soc. Chim. Fr., 1231 (1963).

(116) . S. JULIA et J.P. LAVAUX,
Bull. Soc. Chim. Fr., 1238 (1963).

(117) . S. JULIA et B. FURER,
C.R. Acad. Sc. Paris, 257, 710 (1963).

(118) . R.E. PARKER et N.S. ISAACS,
Chem. Rev., 59, 1737 (1959).

(119) . K. VOKAC et Z. SAMEK,
Coll. Czech. Chem. Comm., 38, 480 (1973).

(120) . A. COCKERILL, G. DAVIES, R. HARDEN et V. RACKHAM,
Chemical Reviews, 73, 553 (1973).

(121) . D.R. CRUMP, J.K. SANDERS et D.H. WILLIAMS,
Tetrahedron Letters, 4949 (1970).

. J.P. BEGUE et J. CHAUFFAILLE,
Bull. Soc. Chim. Fr., 2080 (1972).

(122) . R.E. SIEVERS,
N.M.R. schift reagents, Academic Press,
New-York and London (1973).

(123) . H. HART et G.M. LOVE,
Tetrahedron Letters, 625 (1971).

(124) . J.W. APSIMON, H. BEIERBECK et A. FRUCHIER,
Can. J. Chem., 50, 2725 (1972).

. J.W. APSIMON et H. BEIERBECK,
Tetrahedron Letters, 581 (1973).

(125) . R.E. RONDEAU et R.E. SIEVER,
J. Amer. Chem. Soc., 93, 1522 (1971).

(126) . F. BOHLMANN et C. ZDERO,
Tetrahedron Letters, 621 (1972).

(127) . N.H. FISCHER, R. WILEY et J.D. WANDER,
Chem. Comm., 137 (1972).

. P.V. DEMARCO, T.K. ELZEY, R.B. LEWIS, E. WENKERT,
J. Amer. Chem. Soc., 92, 5724 (1970).

(128) . W. HERZ, K. AOTA, A.L. HALL, A. SRINIVASAN,
J. Org. Chem., 39, 2013 (1974).

(129) . W.H. HERZ, J. POPŁAWSKI et R.P. SHARMA,
J. Org. Chem., 40, 199 (1975).

(130) . T.A. DULLFORCE, G.A. SIM, D.N.J. WHITE,
J.E. KELSEY et S.M. KUPCHAN,
Tetrahedron Letters, 973 (1969).

(131) . F. SORM,
J. Agr. Food Chem., 19, 1081 (1971).

(132) . T.A. GEISSMAN,
Recent adv. in Phytochemistry, 6, 76, ed. par V.C. Runeckles et T.J. Mabry, Acad. Press, London (1973).

(133) . T.C. JAIN et J.E. Mc CLOSKEY,
Tetrahedron Letters, 1415 (1971).

(134) . M. SUCHY, V. HEROUT, F. SORM,
Coll. Czech. Chem. Comm., 31, 2899 (1966).

(135) . P. le HENAFF,
Bull. Soc. Chim. Fr., 4687 (1968).

(136) . R.K. BENTLEY, J.G. St C. BUCHANAN,
T.G. HALSALL et V. THALLER,
Chem. Com., 435 (1970).

(137) . T.K. DEVON et A.I. SCOTT,
Handbook of Naturally occuring compounds, Tome II, Terpenes, Academic Press, New-York and London (1972).

(138) . R. TOUBIANA, B. MOMPON, C.M. HO et M.J. TOUBIANA,
Phytochemistry, 14, 775 (1975).

(139) . E.D. BROUR, M.D. SOLOMON, J.K. SUTHERLAND et A. TORRE,
Chem. Comm., 3 (1967).

. K. TAKEDA, K. TORI, I. HORIBE, M. OHTSURU et H. MINATO,
J. Chem. Soc. (C), 2697 (1970).

(140) . A.S. RAO, A. PAUL, SADGOPAL et S.C. BHATTACHARYYA,
Tetrahedron, 13, 319 (1961).

(141) . M.D. SUTHERLAND,
Aust. J. Chem., 17, 75 (1964).

. R.V.H. JONES et M.D. SUTHERLAND,
J. Chem., 21, 2255 (1968).

. R.V.H. JONES et M.D. SUTHERLAND,
Chem. Comm., 1229 (1968).

(142) . V. BENESOVA, Z. SAMEK, V. HEROUT et F. SORM,
Tetrahedron Letters, 5017 (1970).

(143) . A.F. THOMAS,
Helv. Chim. Acta 55, 2429 (1972).

(144) . A.F. THOMAS, C. VIAL, M. OZAINNE et G. OHLOFF,
Helv. Chim. Acta, 56, 2270 (1973).

(145) . J. ROMO, A. ROMO DE VIVAR et A. ORTEGA,
Terpenoids, Structure, Biogenesis and distribution,
Recent Adv. in Phytochemistry, 6, 21 (1973).

(146) . T. SAITOH, T.A. GEISSMAN, T.G. WADDELL, W. HERZ et S.V. BHAT, Rev. latino americana Quim., 2, 68 (1971).

(147) . W. HERZ, P.S. SUBRAMANIAM, P.S. SANTHANAM, K. AOTA et A.L. HALL, J. Org. Chem., 35, 1453 (1970).

(148) . W. von E. DOERING et W.R. ROTH, Tetrahedron, 18, 67 (1962).

. P.S. WHARTON et D.W. JOHNSON, J. Org. Chem., 38, 4117 (1973).

. K. TAKEDA, Tetrahedron, 30, 1525 (1974).

(149) . S.K. TALAPATRA, A. PATRA et B. TALAPATRA, Chem. Comm., 1534 (1970).

(150) . T.R. GOVINDACHARI, B.S. JOSHI et V.N. KAMAT, Tetrahedron, 21, 1509 (1965).

(151) . R. TOUBIANA, M.J. TOUBIANA, B.C. DAS, Tetrahedron Letters, 207 (1972).

. R. TOUBIANA, M.J. TOUBIANA, K. TORI et K. KUTIYAMA, Tetrahedron Letters, 1753 (1974).

. M.J. TOUBIANA, Thèse Doctorat d'Université, Structure du confertolide, Orsay, N° 165 (1974).

(152) . W.G. PADOLINA, H. HOSHIOKA, N. NAKATANI, T.J. MABRY, S.A. MONTI, R.E. DAVIS, P.J. COX, G.A. SIM, W.H. WATSON et J.B. WU, Tetrahedron, 30, 1161 (1974).

. W.G. PADOLINA, N. NAKATANI, H. YOSHIOKA, T.J. MABRY, S.A. MONTI, Phytochemistry, 13, 2225 (1974).

. T.G. MABRY, Z.A. BASET, W.G. PADOLINA et S.B. JONES, Biochemical Systematics and Ecology, 2, 185 (1975).

(153) . D.H. JANZEN, Evolution, 23, 1 (1969).

. W. BURNETT, P.B. JONES, T.J. MABRY et W.G. PADOLINA, Biochemical Systematics and Ecology, 2, 25 (1974).

(154) . R. SCHUMACHER, J. GUTZWILLER et C.H. TAMM, Helv. Chim. Acta, 54, 2080 (1971).

(155) . J.C. MITCHELL, G. DUPUIS et T.A. GEISSMAN, Br. J. Derm., 87, 235 (1972).

(156) . T. OSAWA, A. SUZUKI et S. TAMURA, Agr. Biol. Chem., 35, 1966 (1971).

(157) . S.M. KUPCHAN,
Trans. New-York Acad. Sci., 32, 85 (1970).

. J.L. HARTWELL et B.J. ABBOTT,
Advan. Pharmacol. Chemother., 7, 117 (1969).

. K.H. LEE, E.S. HUANG, C. PIANDADOSI, J.S. PAGANO et T.A. GEISSMAN,
Cancer Res., 31, 1649 (1971).

. G. RÜCKER,
Deutsche. apotherker-Zeitung, 112, 263 (1972).

(158) . L. HAYNES,
Quart. Rev., 2, 46 (1948).

(159) . G.R. PETTIT, J.C. BUDZINSKI, G.M. CRAGG, P. BROWN et L.R.D. JOHNSTON,
J. Med. Chem., 17, 1013 (1974).

. K.H. LEE, R. MECK, C. PIANTADOSI et E.S. HUANG,
J. Med. Chem., 16, 299 (1973).

(160) . L. SEQUEIRA, R.J. HEMINGWAY et S.M. KUPCHAN,
Science, 161, 789 (1968).

(161) . R.L. HANSON, H.A. LARDY et S.M. KUPCHAN,
Science, 168, 378 (1970).

(162) . C.H. SMITH, J. LARNER, A.M. THOMAS et S.M. KUPCHAN,
Biochim. Biophys. Acta, 276, 94 (1972).

(163) . E. SACH, R. TOUBIANA et B. MOMPON,
Résultats inédits.

(164) . R. TOUBIANA, C.M. HO, B. MOMPON,
Résultats inédits.

(165) . WEYGAND-HILGETAG,
Organisch-Chemische Experimentierkunst, 80,
3 Auffage, Barth Verlag, Leipzig (1964).

Service de Reprographie
C.N.R.S.
Gif